



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention
du diplôme de Master 2

Filière: Biologie

Spécialité : Analyse et Contrôle des Denrées Alimentaires

Thème

**Pouvoir antibactérien et antioxydant des extraits
(Huile essentielle et hydrolat) de *Salvia officinalis* de la
région de Bordj Bou Arreridj**

Présenté par:

Cherigui Mebarka

Zaibet Hanane

Président: M^{me}Baaziz N.

MCA à l'Univ. M^{ed} ElBachir El Ibrahimi, BBA)

Promoteur: M^{me}Saidi S.

MAA à l'Univ. M^{ed} ElBachir El Ibrahimi, BBA)

Examineur: M^{me}kelaleche H.

MAA à l'Univ. M^{ed} ElBachir El Ibrahimi, BBA)



Remerciement

*Nous remercions tous d'abord Allah le tout Puissant de
nous avoir donné la volonté et le courage pour
accomplir ce mémoire.*

*A Madame SAIDI.S qui nous a fait l'honneur
de nous encadrer.*

*Nous remercions Madame Baaziz et Madame Kelaleche les
membres de jurée d'avoir accepté d'examiner
notre mémoire.*

*Que tous ceux et toutes celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la
réalisation de ce mémoire, veuillent trouver ici nos sincères remerciements.*

Nous témoignons en particulier notre profonde reconnaissance à

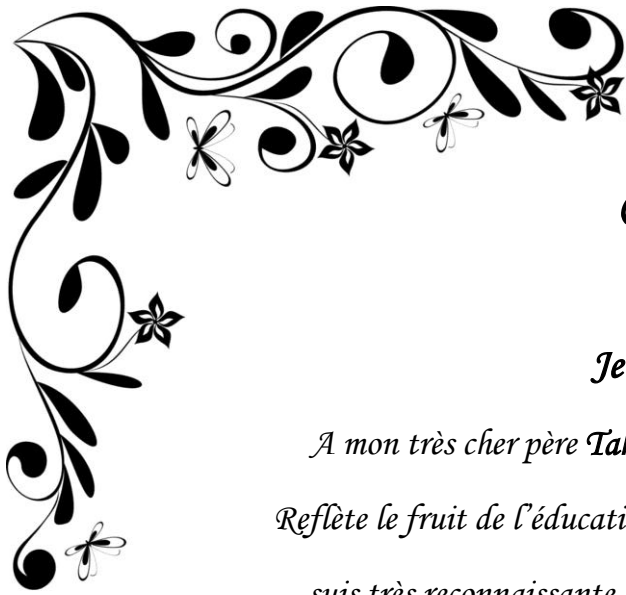
*Un merci spécial aux membres du département de science de
la matière en particulier Madame Ferrous.*

*A tous nos amis; après tout, ce sont
eux qui nous soutiennent et nous permettent de nous changer les idées
dans les moments difficiles.*

*Un remerciement spécial pour Boukhelifa Rabah et Lakhdhar
pour leurs aides et suivi dans la réalisation de ce mémoire.*

Merci à tous





Dédicace

Je dédie ce travail :

*A mon très cher père **Tahar**, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.*

*A l'hina **ma mère**, qui ma supportée et m'a aidée dans les pires moments, car tu as toujours cru en moi, je suis que je suis maintenant ; merci **maman**.*

*A l'âme de ma chère grand-mère **Taouss** aujourd'hui je me recueille sur sa tombe et lui dit avec fierté aussi : « Repose en paix et que dieu te garde dans son vaste paradis ».*

A toute ma petite famille surtout :

*A ma tante **Nadia***

*A mes frères : **Samir** et sa femme **Amel** et **Soufiane** et sa petites famille surtout à **sarah** et à son petit **Souhaib***

*A mes sœurs : **Amel** et ces petits **Djinan** et **Abdeldjalil**, **Souad** et **Sihem** et sa petite **Soundoss***

A ma grande familles chaqu'un avec son nom.

Merci à tous.

Hanane



Résumé

L'étude réalisée sur la plante locale *salvia officinalis* a abouti à l'extraction d'une huile essentielle ayant un rendement de 0.62 % et une activité antioxydante importante de 0.24 mg/ml, l'activité antibactérienne de cette huile essentielle s'est exercée simultanément sur 6 bactéries à Gram positif 7 bactéries à Gram négatif avec des diamètres des zones d'inhibitions allant de 16.33 à 23.66 mm et variant de 16 à 24.33 mm pour les Gram positif à l'exception de *Pseudomonas sp* (9.33 mm). Pour l'hydrolat toutes les bactéries à Gram négatif testées ont montrés une certaine sensibilité à l'hydrolat pure et dilué avec des zones d'inhibitions variant de 8 à 11 mm à l'exception de *Klebsiella*, tandis que les bactéries à Gram positif ont manifestés une forte résistance prouvée par l'absence totale des zones d'inhibitions.

Mots clé: *Salvia officinalis*, l'activité antibactérienne, l'activité antioxydante, l'huile essentielle, l'hydrolat.

Abstract

The study carried out on the local plant *Salvia officinalis* has ends in the extraction of an essential oil having a 0.62 % yield and an activity antioxydante important of 0.24 mg/ml, the antibacterial activity of this essential oil practiced simultaneously on 6 bacteria positive Gram and 7 bacteria to negative Gram with diameters of the zones of going inhibitions de 16.33 in 23.66 mm and varying 16 to 24.33 mm for positive Gram With the exception of *Pseudomonas sp* (9.33 mm). For the hydrolat all the bacteria to negative Gram tested showed a certain sensibility in the hydrolat pure and diluted With zones of inhibitions varying 8 to 11 mm with the exception of *Klebsiella*, whereas bacteria to positive Gram demonstrated a strong resistance proved by the total absence of the zones of inhibitions.

Key words: *Salvia officinalis*, antibacterial activity, activity antioxydante, essential oil, hydrolat.

الملخص

تمت الدراسة على النبتة المحلية *salvia officinalis* وذلك باستخلاص الزيت الاساسي بمردود 0.62 % مع نشاط كبير مضاد للأكسدة بقيمة 0.24 ملغ/مل. تم تنفيذ النشاط المضاد للبكتيريا لهذا الزيت الطيار في وقت واحد على جميع البكتيريا ايجابية الجرام وسالبة الجرام بأقطار تتراوح ما بين 16.33 و 23.66 مم و تختلف من 16 الى 24.33 مم بالنسبة لاجيابة الجرام باستثناء *Peudomonas .sp* (9.33 مم). أما بالنسبة للماء العطري فجميع البكتيريا سالبة الجرام المختبرة قد أظهرت حساسية للماء العطري النقي والمخفف مع حلقات تثبيط يتراوح قطرها ما بين 8 إلى 11 مم باستثناء *Klebsiella* حيث أن البكتيريا موجبة الجرام قد أظهرت مقاومة قوية تتضح بانعدام كلي لحلقات التثبيط.

الكلمات المفتاحية: *Salvia officinalis*، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة، الزيت الأساسي، الماء العطري.

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	
INTRODUCTION	01

Chapitre 1 : Analyse Bibliographique

1-1 Propriétés biologiques de <i>Salvia officinalis</i>	02
1-1-1 Généralités	02
1-1-1-1 Propriétés botaniques	02
1-1-1-2 Classification.....	02
1-1-1-3 Caractéristiques morphologiques.....	03
1-1-1-4 Nomenclature.....	03
1-1-1-5 Ecologie et répartition géographique.....	03
1-1-2 Usage traditionnel.....	04
1-1-3 Composition chimique.....	04
1-2 Les huiles essentielles	05
1-2-1 Définition.....	05
1-2-2 Propriétés physiques.....	05
1-2-3 Composition chimique.....	05
1-2-3-1 <i>Les carbures terpéniques</i>	05
a) <i>Les carbures saturés</i>	05
b) <i>Les alcools</i>	06
c) <i>Les phénols</i>	06
d) <i>Les aldéhydes</i>	06
e) <i>Les cétones</i>	06
f) <i>Les esters</i>	06
1-2-4 Localisation des huiles essentielles.....	08
1-2-5 Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	08
a) <i>Hydrodistillation simple</i>	08
b) <i>Distillation à vapeur saturée</i>	08

c) <i>Hydrodiffusion</i>	08
1-2-6 Activités biologiques des huiles essentielles.....	09
1-2-6-1 Activité antibactérienne.....	09
1-2-6-2 Activité antifongique.....	10
1-2-6-3 Activité antioxydante.....	10
1-2-6-4 Activité anti-inflammatoire.....	10
1-2-7 Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	10
1-2-8 La toxicité des huiles essentielles.....	11
1-3 Les eaux florales (Hydrolat)	11
1-3-1 Généralités.....	11
1-3-2 Définition.....	12
1-3-3 Extraction des eaux florales.....	12
1-3-4 Domaines d'utilisation de l'hydrolat de <i>Salvia officinalis</i>	12
1-3-4-1 En cosmétique.....	12
1-3-4-2 En santé.....	13
1-3-4-3 En cuisine.....	13

Chapitre 2 : Etude Expérimentale

2-1 Matériel	14
2-1-1 Matériel végétal.....	14
2-1-2 Appareils et produits chimiques.....	14
2-1-2-1 Appareillage.....	14
2-1-2-2 Réactifs.....	15
2-1-3 Milieux de culture.....	15
2-1-4 Provenance des souches bactériennes utilisées.....	16
2-2 Méthodes	19
2-2-1 Extraction de l'huile essentielle.....	19
2-2-1-1 Dispositif d'extraction.....	19
2-2-1-2 Procédé d'extraction.....	19
2-2-1-3 Conservation des extraits.....	21
2-2-1-4 Détermination du rendement d'extraction.....	21
2-2-2 Détermination de l'activité antioxydante.....	21
2-2-2-1 Test FRAP (ferric reducing antioxidant power).....	21
a) <i>Principe</i>	21
b) <i>Mode opératoire</i>	22

2-2-3 Détermination de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion : sur disques.....	22
2-2-3-1 Préparation des disques.....	22
2-2-3-2 Préparation des dilutions.....	23
<i>a) Dilution du DMSO.....</i>	23
<i>b) Dilutions de l'huile essentielle.....</i>	23
<i>c) Dilutions de l'hydrolat.....</i>	23
2-2-3-3 Souches bactériennes cibles.....	23
<i>a) Préparation du milieu de culture.....</i>	23
<i>b) Préparation de l'inoculum.....</i>	23
<i>c) Ensemencement et dépôt des disques.....</i>	24
<i>d) Lecture des résultats.....</i>	24
2-3 Résultats et discussion.....	25
2-3-1 Extraction de l'huile essentielle.....	25
2-3-1-1 <i>Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite.....</i>	25
2-3-1-2 <i>Caractéristiques organoleptiques de l'hydrolat.....</i>	25
2-3-1-3 <i>Détermination du rendement de l'huile essentielle.....</i>	25
2-3-2 Détermination de l'activité antioxydante.....	25
2-3-3 Détermination de l'activité antibactérienne.....	27
Conclusion générale.....	39

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des abréviations

- ATCC** : American Type Culture Collection
- HE** : Huile essentielle.
- HA** : Hydrolat aromatique.
- DMSO** : Diméthylsulfoxyde.
- CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

Liste des tableaux

Tab.1 : Classification scientifique de <i>Salvia officinalis</i>	02
Tab.2 : Souches testées utilisées.....	17
Tab.3 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> sur les souches à Gram négatif	28
Tab.4 : Activité antibactérienne de l'hydrolat de <i>Salvia officinalis</i> sur les souches à Gram négatif	29
Tab.5 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> sur les souches à Gram positif	32
Tab.6 : Activité antibactérienne de l'hydrolat de <i>Salvia officinalis</i> sur les souches à Gram positif	33

Liste des figures

Fig.1 : La sauge : fleurs	03
Fig.2 : la sauge : feuilles.....	03
Fig.3 : Structures des composants chimiques des huiles essentielles.....	07
Fig.4 : Dispositif de l'Hydro distillation.....	19
Fig.5 : Procédé de l'hydrodistillation de l'HE et l'HA.....	20
Fig.6 : Illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de Pétri.....	24
Fig.7 : Courbe d'étalonnage avec l'acide ascorbique.....	26
Fig.8 : L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> sur les bactéries à Gram négatif.....	35
Fig.9 : L'activité antibactérienne de l'huile essentielle <i>Salvia officinalis</i> sur les bactéries à Gram positif	39
Fig.10 : L'activité antibactérienne de l'hydrolat de <i>Salvia officinalis</i> sur quelques souches testées.....	37
Fig.11 : Effet inhibiteur de l'huile essentielle pure et diluée sur les bactéries à Gram négatif.....	38
Fig.12 : Effet inhibiteur de l'huile essentielle pure et diluée sur les bactéries à Gram positif.....	38

Introduction

Depuis l'antiquité et certainement bien avant, les plantes médicinales et aromatiques ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'homme. Ces plantes ont été généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agents antibactériens et antifongiques. Mais, la découverte des antibiotiques a provoqué le déclin de la médecine des plantes et l'a reléguée à un rang secondaire (Benabdellah, et *al.*, 2006).

Cependant, l'émergence de la résistance à ces molécules suite à leur utilisation massive et parfois abusive, est devenue un réel problème de santé publique. Ainsi, la pharmacologie, mais aussi la nutrition et l'agroalimentaire redécouvrent les vertus des plantes médicinales. Ces dernières sont capables d'élaborer diverses molécules de forte valeur, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires (Benabdellah, et *al.*, 2006).

Parmi les composés bioactifs synthétisés par les plantes aromatiques et médicinales, les huiles essentielles font actuellement l'objet d'une attention toute particulière en raison de leurs propriétés antibactérienne, antifongique, antivirale, antioxydante, cytotoxique et anticancérogène (Benabdellah, et *al.*, 2006).

Le but de notre étude expérimentale consiste à l'extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat par hydro distillation à partir de la plante aromatique et médicinale *Salvia officinalis*, une espèce végétale originaire du bassin méditerranéen, très répandue en Algérie et très utilisée pour ses innombrables vertus thérapeutiques.

Une autre étape s'est rapportée à la détermination de l'activité antioxydante de l'huile essentielle. Une dernière étape porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits (huile essentielle et hydrolat) sur un ensemble de bactéries pathogènes et responsables de dégradation des aliments.

Chapitre 01

Analyse bibliographique

1-1 Généralités

1-1-1 Propriétés biologiques de *Salvia officinalis*

1-1-1-1 Propriétés botaniques

La sauge (*Salvia officinalis*) est une espèce végétale appartenant à la famille des *Lamiaceae*. C'est une famille cosmopolite d'arbres contenant environ 31 genres et 2700 espèces. En Algérie, 30 espèces végétales sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques. Les plantes de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et en préparation culinaire (Longaray et al., 2007, Maksinovic et al., 2007).

1-1-1-2 Classification

La classification de *Salvia officinalis* est la suivante (**Tab. 1**)

Tab.1 : Classification scientifique de *Salvia officinalis* (Hans 2007).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salviaofficinalis</i>

1-1-1-3 Caractéristiques morphologiques

Salvia officinalis est un arbuste vivace de 30 à 60 cm de hauteur, à tiges ligneuses formant des rameaux quadrangulaires dressés et velus, aux feuilles ovales et allongées, gris verdâtre en raison d'une pubescence cotonneuse sur la face inférieure. Cette plante se caractérise par une odeur aromatique et de petites fleurs bleu violettes qui s'épanouissent en Juin ou Juillet (Fig.1) (Benkherara et *al.*, 2011).



Fig. 1 La sauge: fleurs (Anonyme, 2002)



Fig.2 La sauge : feuilles (Anonyme, 2002)

1-1-1-4 Nomenclature

Plusieurs appellations ont été données à *Salvia officinalis*. En français elle s'appelle la sauge. Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment "essalma". En Espagne, elle est appelée "salbia" par les botanistes. Les Algériens lui confèrent l'expression "souek ennebi" comme synonyme de Salème et la nomment aussi mayramia. (Longarayet *al.*, 2007, Maksinovic et *al.*, 2007).

1-1-1-5 Ecologie et répartition géographique

Salvia officinalis est une plante vivace originaire des régions méditerranéennes orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires. Elle croit de manière spontanée et en culture le long de tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'à la Turquie et dans le nord de l'Afrique.

Comme beaucoup de Lamiaceae la sauge est particulièrement abondante sur les versants calcaires ensoleillés de la cote dalmate (Croatie et Monténégro), ainsi qu'en Albanie, en Hongrie, en Allemagne et en France (Maatoug. H, 1990).

1-1-2 Usage traditionnel

En médecine traditionnelle, *Salvia officinalis* a été utilisée par les grecs, les romains et les arabes comme tonique et en compresses contre les morsures de serpent et comme des cigarettes contre l'asthme (Anonyme, 2002).

Cette plante est employée en tant que stimulant pour les gens anémiques et aussi pour les personnes stressées et déprimées. Les feuilles en infusion constituent des gargarismes astringents contre les inflammations de la bouche, les abcès et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Djerroumi et Nacef, 2004). Elle est alors principalement appliquée pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine, les troubles digestifs et les problèmes du système nerveux. Elle est ainsi très souvent proposée aux femmes ménopausées, afin de réduire les sueurs nocturnes (Radulescu et al., 2004). Cette herbe aromatique est employée dans la cuisine, pour son goût puissant, légèrement amer et camphré (Duling, 2007).

1-1-3 Composition chimique

Salvia officinalis contient un grand nombre de molécules ayant des intérêts multiples à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacologie.

Parmi ces composés, on retrouve :

- **Les flavonoïdes** : dont 4000 composés sont identifiés jusqu'à maintenant. Ces pigments sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et des feuilles, comme ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayons UV (Hadi, 2004).

- **Les tannins** : sont des molécules à poids moléculaire relativement élevé, ils possèdent deux sous-groupes : tannins hydrolysables et tannins condensés.

Les premiers sont des esters d'acides galliques.

Les derniers sont des polymères de polyhydroxyflavone-3-ol monomères (aussi connus sous le nom de proanthocyanidine) (Sarmi et Cheymer, 2006).

- **Une huile essentielle** : constitue de composés doués de multiples vertus thérapeutiques. Exemple : camphre, cinéol et cétone monoterpéniques.

En plus de ces composés, il existe dans cette plante des coumarines, des alcaloïdes, des acides phénoliques, et des terpènes (Sarmi et Cheymer, 2006).

1-2 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues depuis des millénaires pour leur action bénéfique sur l'homme. Quatre mille ans avant J.C., les Egyptiens utilisaient déjà les huiles essentielles comme parfum dans les momifications des corps (Lamaty et *al.*, 1997).

1-2-1 Définition

Une huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage (Pengelly, 2003).

1-2-2 Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante et ne sont que très rarement colorées. Elles sont solubles dans les solvants organiques et volatiles ce qui les différencie des huiles fixes. Leur densité est inférieure à celle de l'eau (Brunetou, 1999).

1-2-3 Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles est très variée. Pour une même espèce la composition peut varier en fonction du climat, de l'origine géographique, du mode de culture, de la saison, de la récolte, de la partie de la plante utilisée, du matériel et des techniques employées pour l'extraction, etc. (Duraffourd et Lapraz, 2002).

Parmi les innombrables substances présentes dans les huiles essentielles, on rencontre :

I-2-3-1 Les carbures terpéniques

Les carbures terpéniques ont une forme cyclique et répondent à la formule générale $(C_5H_8)_n$ Exemple : le pinène (José et Fonteau, 2008).

a) Les carbures saturés

Les carbures saturés ne sont pas réductibles, le benzène non plus, mais des composés dérivés, tel le styrène, subissent une réduction. Ils se caractérisent par une grande stabilité. Leur formule générale est C_nH_{2n+2} (Jadot, 1994).

b) Les alcools

Les alcools sont liquides dans les conditions standards. Ils sont souvent utilisés comme solvants pour les autres composés organiques. Les caractéristiques physiques des alcools sont fortement modulées par la présence du groupe fonctionnel hydroxyle. On retrouve des alcools de tous genres dans le règne végétal et notamment sous forme de glucides (Peter et *al.*, 2004).

c) Les phénols

Les phénols sont des composés organiques oxygénés pouvant être considérés comme des dérivés de l'eau. Ils sont employés dans l'industrie comme antioxydants, intermédiaires de synthèse, désinfectants, agents de tannage. Exemple : le thymol (Kiel, 2004).

d) Les aldéhydes

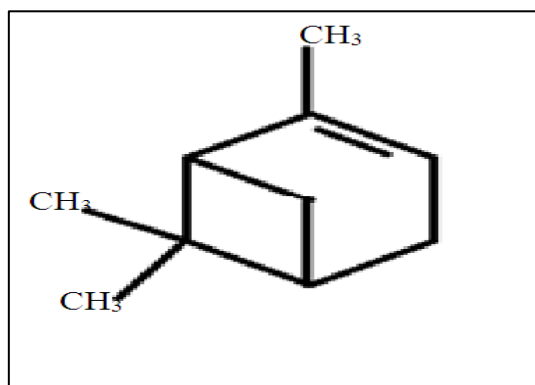
Les aldéhydes appartiennent à la classe des composés chimiques organiques symbolisés par la formule générale R-CHO. En raison de leur forte réactivité chimique, ils sont utilisés dans la fabrication des résines synthétiques, des solvants et des colorants etc. Exemple : l'acide cinnamique (Kiel, 2004).

e) Les cétones

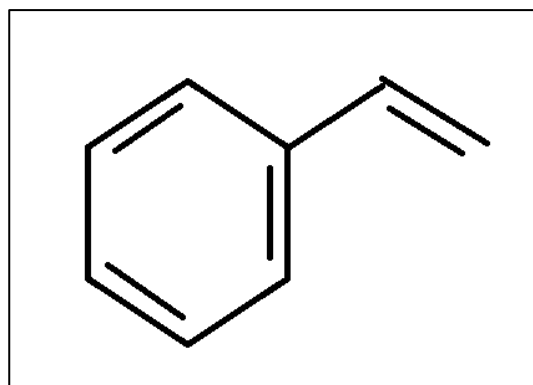
La structure chimique des cétones est caractérisée par la présence d'un groupement carbonyle ($-C=O$) lié à deux atomes de carbone. Elles sont largement utilisées comme solvants industriels des colorants, elles jouent également un rôle comme intermédiaire en synthèse chimique (Kiel, 2004).

f) Les esters

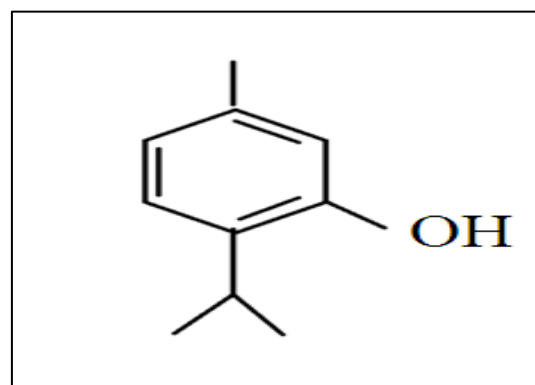
Les esters sont des composés organiques oxygénés pouvant être considérés comme des dérivés des acides carboxyliques, car ils sont obtenus par remplacement d'un atome d'hydrogène de la fonction carboxyle ($-COOH$) d'un acide, par un radical alkyle ($-R$) ou aryle ($-Ar$). Les esters aromatiques sont moins volatiles et ont également une odeur agréable. Les esters benzyliques sont plus irritants que les esters aliphatiques correspondants (Kiel, 2004).



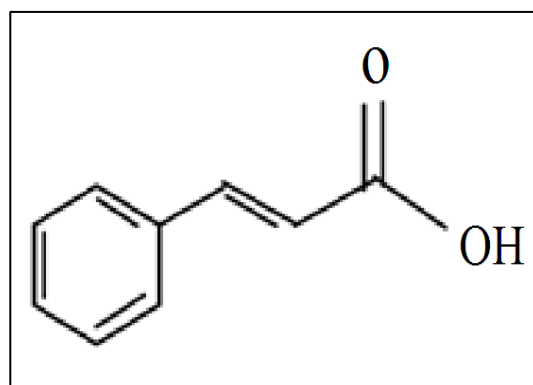
Pinène



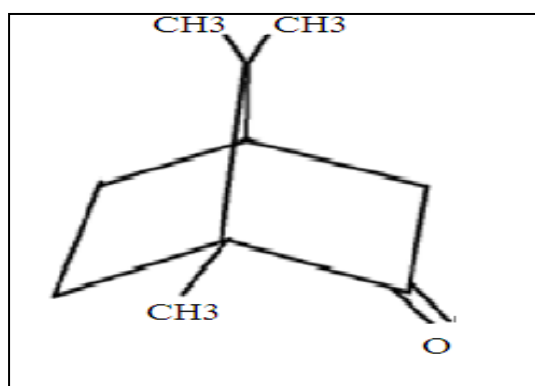
Styrène



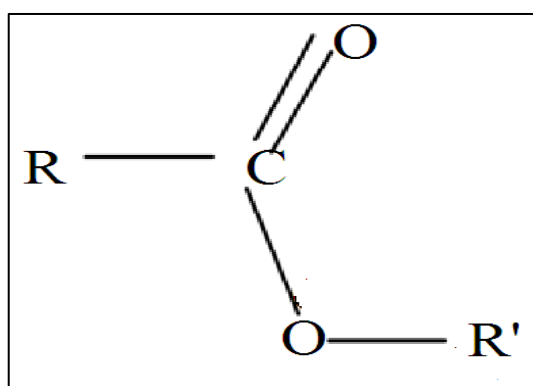
Thymol



L'acide cinnamique



Camphre



L'ester

Fig.3 : Structures des composants chimiques des huiles essentielles (Kiel, 2004).

1-2-4 Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux: les fleurs (bergamotier, tubéreuse..), mais aussi les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier..) et bien que ce soit moins habituel dans des écorces (cannelier), les bois (bois de rose, santal..), les racines, les rhizomes (curcuma, gingembre..), les fruits (toutes épices, anis, badiane...), les graines (muscade...) (Oussala et *al.*, 2006).

1-2-5 Techniques d'extraction des huiles essentielles

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entraînement à la vapeur d'eau.

a) *Hydrodistillation simple*

L'Hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau, l'ensemble est porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité pour l'obtention de 2 couches HE et HY (Benyadah, 2008).

b) *Distillation à vapeur saturée*

Le matériel végétal n'est pas en contact direct avec l'eau, il est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. Les composés volatiles entraînés par la vapeur d'eau vont être séparés par décantation du distillat refroidi (Benyadah, 2008).

c) *Hydrodiffusion*

L'hydrodiffusion consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale. La composition des produits obtenus est sensiblement différente au plan qualitatif de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes. L'industrie des parfums a utilisé jadis l'enfleurage pour les organes fragiles comme les fleurs, c'est-à-dire le contact avec un corps gras qui se sature d'essence. Le corps gras est épuisé par l'alcool absolu et ce solvant est évaporé sous vide à 0°C (Benyadah, 2008).

1-2-6 Activités biologiques des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (Dorman et *al.*, 2000).

1-2-6-1 Activité antibactérienne

Les composés possédant la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : le thymol, le carvacrol et l'eugénol. Le carvacrol est le plus actif de tous reconnu pour être non toxique. Il est utilisé comme agent de conservation et comme arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches. L'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires et dentaires. Ces composés ont un effet antibactérien contre un large spectre de bactérie est elles : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejunii*, *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* (Fabian et *al.*, 2006).

Les alcools monoterpéniques viennent immédiatement après les phénols, en termes d'activité antibactérienne. Les plus connus sont: le géraniol, le linalool, le thujanol, le myrcénol, le terpinéol, le menthol et le pipéritol. (Onawunmi et *al.*, 1984).

Les aldéhydes monoterpéniques sont également quelque peu bactéricides, les plus couramment utilisés sont le néral, le géraniale, le citronellal et le cuminal (Onawunmi et *al.*, 1984).

a- Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries

Les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches de bactéries. D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant ainsi une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- acidification de l'intérieur de la cellule bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- destruction du matériel génétique conduisant à la mort de la bactérie.

1-2-6-2 Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre une large gamme de moisissures et levures pathogènes telles que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium* etc. (Dogmos et al., 2008).

1-2-6-3 Activité antioxydante

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles sont actuellement massivement étudiées. Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, organ et thym possèdent de puissants composés antioxydants. Le thymol et le carvacrol sont les composés les plus actifs. (Edris, 2007).

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuée à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques tels le linalool, le 1,8-cinéole, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes tels l' γ -terpinène et l' α -terpinolène (Edris, 2007).

1-2-6-4 Activité anti-inflammatoire

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires est telles que les rhumatismes, les allergies ou les arthrites. Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l'attention des chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants volatiles font actuellement l'objet d'études dans le but de la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Edris, 2007).

1-2-7 Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les applications thérapeutiques des huiles essentielles sont vastes. Elles requièrent de bonnes connaissances de ces substances et du fonctionnement du corps humain. L'usage des huiles essentielles en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte des processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. (Domaracky et al., 2007).

De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de produits pharmaceutiques : sirop, gouttes, gélules. Elles rentrent aussi dans la préparation d'infusions telle que : la verveine, le thym, la menthe et autres. (Domaracky et *al.*, 2007).

Les huiles essentielles sont utilisées en raison de leurs propriétés stimulantes ou inhibitrices notamment sur les microbes (désinfection) et les activités cellulaires des plantes ou animaux. Elles servent par exemple comme produits phytosanitaires pour combattre dans les cultures végétales les infections fongiques ou bactériennes ou virales. Elles apportent des solutions en agriculture biologique, réduisant ainsi les effets néfastes des pesticides de synthèse comme la pollution ou le développement de résistance (Domaracky et *al.*, 2007).

1-2-8 La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "Ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie. (Marie, 1998).

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldehyde ou photo toxique (huiles de *citrus* contenant des furocoumarines). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme l'*alpha*-thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux. Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont cancérogènes (Marie, 1998).

1-3 Les eaux florales ou hydrolat aromatique

1-3-1 Généralités

L'hydrolathérapie, ou thérapie par les eaux florales, est une branche de l'aromathérapie, elle-même issue de l'ensemble plus vaste de la phytothérapie. Au cours de la distillation d'une plante, deux produits très précieux émergent: d'une part l'huile essentielle (HE) et d'autre part l'hydrolat (HA) à savoir l'eau imprégnée de molécules aromatiques. En l'espace d'une décennie, les HE ont fait un chemin remarquable dans la conscience collective. En revanche, il n'en va pas de même des hydrolats qui restent bien souvent peu exploités. Ces "eaux magiques" ont pourtant, elles aussi, des vertus

thérapeutiques hors pair, issues de la plante, mais aussi de la faculté purificatrice de l'eau (Beaudoux, 2000).

1-3-2 Définition

L'hydrolat est l'eau chargée de principes volatiles hydrophiles recueillis lors d'une distillation par entraînement à la vapeur d'eau de la matière végétale. Il s'agit de l'eau distillée séparée de l'huile essentielle à la sortie de l'alambic, et qui s'est chargée de molécules aromatiques au cours de la distillation. Elle est incolore d'une odeur puissante, aromatique, fraîche et herbacée et d'une saveur rafraichissante (Bouissy, 2004).

1-3-3 Extraction des eaux florales :

L'hydrodistillation pour l'extraction des eaux aromatiques de *salvia officinalis* est la méthode préconisée par la Pharmacopée Européenne (Anonyme, 2002).

Suite à une hydrodistillation, la vapeur condensée obtenue conduit à une phase organique (huile essentielle) et une phase liquide (l'eau aromatique ou hydrolat) dont la séparation se fait par décantation. Cette dernière contient une quantité non négligeable d'essence aromatique sous forme solubilisée.

La récupération de huile essentielle est réalisée par extraction liquide-liquide avec un solvant organique (éther di éthylique). L'utilisation d'un évaporateur rotatif sous vide permet d'éliminer l'éther et d'obtenir ainsi l'huile essentielle pure (Rao, 2002).

1-3-4 Domaines d'utilisation de l'hydrolat de *salvia officinalis*

1-3-4-1 En cosmétique

L'hydrolat est un régénérant et un antioxydant qui combat les radicaux libres et prévient le vieillissement prématuré de la peau. C'est un purifiant et équilibrant qui aide à contrôler les sécrétions de sébum et assainit la peau. En plus, il régularise la transpiration excessive et il est considéré comme un embellisseur capillaire en redonnant une brillance et une vitalité aux cheveux foncés (Bouissy, 2004).

1-3-4-2 En santé

Il existe plusieurs cas d'utilisation de l'hydrolat de *Salvia officinalis* dans le domaine de la santé surtout dans les cas des insuffisances biliaires et hépatiques, les bouffées de chaleur, les troubles circulatoires liés au système hormonal, asthme, bronchite, toux, cholestérol, aphtes infections buccales. (Baudoux, 2000).

Il est considéré comme un harmonisant des fonctions rénales, surrénales et hépatiques et un mimétique des œstrogènes, Il apaise les symptômes prémenstruels et ceux liés à la ménopause. Cet extrait joue aussi un rôle très important dans la régulation de la flore intestinale et dans le soulagement des maux de la bouche (Baudoux, 2000).

1-3-4-3 En cuisine

L'hydrolat peut apporter une touche de fraîcheur d'originalité à vos plats. Ainsi l'addition de quelques gouttes de l'hydrolat de *Salvia officinalis* à la soupe permet de lui donner un gout plus raffiné (Bouissy, 2004).

Chapitre 02

Etude expérimentale

2-1 Matériel

2-1-1 Matériel végétal

Salvia officinalis a été achetée au marché local à Bordj Bou Arreridj, vu que sa récolte se fait en Juin ou en Juillet et notre travail a commencé en Avril. L'identification de l'espèce a été réalisée au niveau de la direction des forêts de la wilaya de Bordj Bou Arreridj.

2-1-2 Appareils et produits chimiques

2-1-2-1 Appareillage

- Autoclave (Germany).
- Bain marie (Menmert).
- Balance de précision (KERN).
- Etuve microbiologique (Germany).
- Spectrophotomètre (UV mini-1240).
- Système d'hydrodistillation
 - Chauffe ballon.
 - Ballon.
 - Colonne.
 - Réfrigérant.
 - Erlen Meyer.
 - Ampoule à décanté.

2-1-2-2 Réactifs

- Ether di éthylique
- Ether de pétrole.
- Hexacyanoferrate de potassium.
- Acide trichloracétique
- Chlorure ferrique.
- Acide ascorbique
- Tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6).

- DMSO: Le diméthylsulfoxyde est un solvant organique ayant la capacité de solubiliser les huiles essentielles.

2-1-3 Milieux de culture**❖ Bouillon nutritif**

Le bouillon nutritif constitue un milieu d'utilisation générale pour un grand nombre de microorganismes ne présentant pas d'exigences particulières.

➤ Composition

- Peptone : 10 g
 - Extrait de viande : 5 g
 - NaCl : 5g
 - Eau distillée : 1l
- pH= 7,6 à 7,8

❖ Gélose nutritive

La gélose nutritive a été employée pour la culture des bactéries utilisées et pour les tests d'inhibition au lieu de la gélose Muller Hinton.

➤ Composition

- Peptone : 6.0 g
 - Extrait de bœuf : 1.0g
 - Extrait de levure : 2.0g
 - NaCl : 5.0g.
 - Eau distillée : 1l.
 - Agar agar: 14.0g
- pH final : 7,3

2-1-4 Provenance des souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées nous ont été gracieusement fournies par le laboratoire de microbiologie du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Sétif puis conservées à 4 °C dans des tubes à essais contenant de la gélose nutritive inclinée. Elles sont représentées dans le tableau 2.

Tab.2 Souches tests utilisées

Bactéries à Gram négatif	Bactéries à Gram positif
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 663313
<i>Escherichia coli</i> sp. L ⁺ 966	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876
<i>Escherichia coli</i> sp.L ⁻ 966	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
<i>Pseudomonas</i> sp. 989	<i>Enterococcus faecalis</i> sp. 962
<i>Klebsiella</i> sp. 970	

✓ *Enterococcus faecalis*

Bactérie à Gram positif de la famille des Enterococcaceae, commensale du tube digestif humain et d'autres mammifères. Cette bactérie peut déclencher des inflammations chroniques de l'intestin. Comme elle peut causer des infections mortelles chez l'homme (Hart et Shears, 2002).

✓ *Escherichia coli*

Bacille à Gram négatif apparentant à la famille des Entérobactériaceae (Hart et Shears, 2002), commensale du tube digestif de l'homme et de l'animal (Chakou *et al.*, 2007). *Escherichia coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections urinaires. Elle provoque également des septicémies, des diarrhées, des gastro-entérites et des intoxications alimentaires (Hart et Shears, 2002).

✓ ***Klebsilla pneumoniae***

Bactérie appartenant à la famille des Enterobacteriaceae, immobile, capsulée avec des colonies muqueuses. (Garbannelle*et al.*, 1987). Elle se trouve dans les matières fécales de l'homme et des animaux. *Klebsilla pneumoniae* provoque des bronchites, des broncho-pneumonies, des pleurésies, des infections urinaires et des septicémies (Nathallie, 2006).

✓ ***Pseudomonas aeruginosa***

Pseudomonas aeruginosa (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert des colonies (Nauciel, 2000). Il s'agit de bactéries résistantes aux antibiotiques. Cette bactérie est responsable de pneumonies nosocomiales, des infections urinaires, des infections suite aux blessures chirurgicales (Avril *et al.*, 2000).

✓ ***Staphylococcus aureus***

Les *staphylocoques* sont des cocci à Gram positif aéro-anaérobie facultatifs, La bactérie est très répandue chez l'homme et chez de nombreuses espèces animales.

Chez l'homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides.

Staphylococcus aureus représente l'agent commun des infections postopératoires, des endocardites aiguës et des intoxications alimentaires. Il développe rapidement des résistances aux antibiotiques (Nauciel, 2000).

✓ ***Listeria monocytogenes***

Listeria monocytogenes est une bactérie à Gram positif, mobile, non sporulée, aéro-anaérobie facultative. Il s'agit d'un germe très redoutable pouvant causer des infections mortelles vu qu'il est capable de croître à la température de réfrigération ainsi qu'à des pH acides et basiques et aussi en condition micro-aérophiles (Catteau, 2006).

✓ ***Bacillus***

Bacillus est responsable de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques et d'intoxications se traduisant par des symptômes émétiques. Il s'agit d'un bâtonnet à Gram positif, sporule et aéro-anaérobie facultatif (Dromigny, 2008).

2-2 Méthodes

2-2-1 Extraction de l'huile essentielle

2-2-1-1 Dispositif d'extraction

L'appareil employé est constitué d'une chauffe ballon permettant la distribution homogène de la chaleur, un ballon en verre pyrex où l'on place la matière végétale et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) venant de l'échauffement du ballon, un collecteur (Erlen Meyer) qui reçoit les extraits de la distillation (l'huile essentielle et l'hydrolat) (Figure 3).

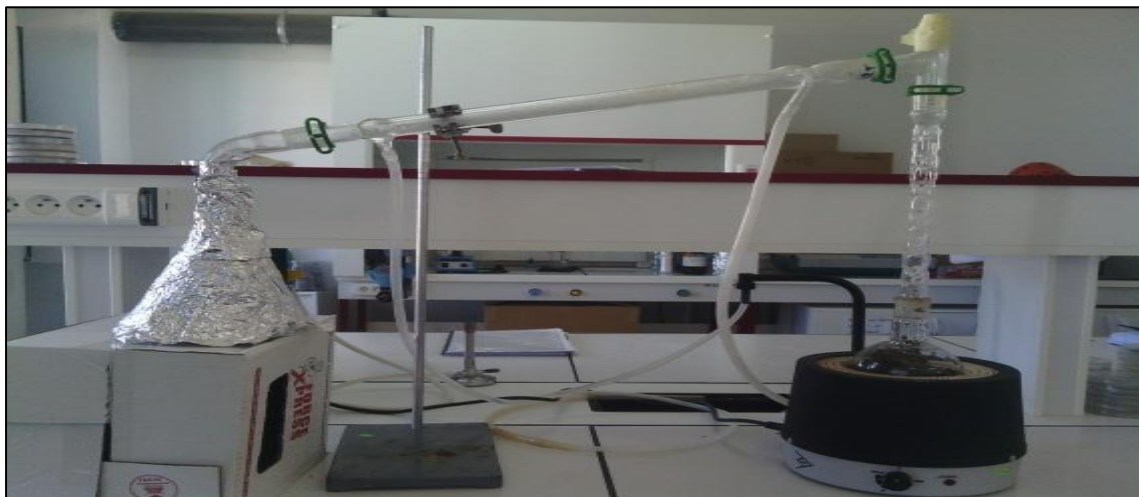


Fig. 4 Système de l'hydrodistillation

2-2-1-2 Procédé d'extraction

Trente grammes de matière végétale (*Salvia officinalis*) ont été mis dans un ballon à fond rond additionnés de 300 ml d'eau distillée. Le tout a été porté à l'ébullition pendant environ 2 heures. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera par la suite séparée, après repos du liquide. De ce fait les deux extraits (l'huile essentielle et l'hydrolat) sont récupérés séparément (Hellal, 2011).

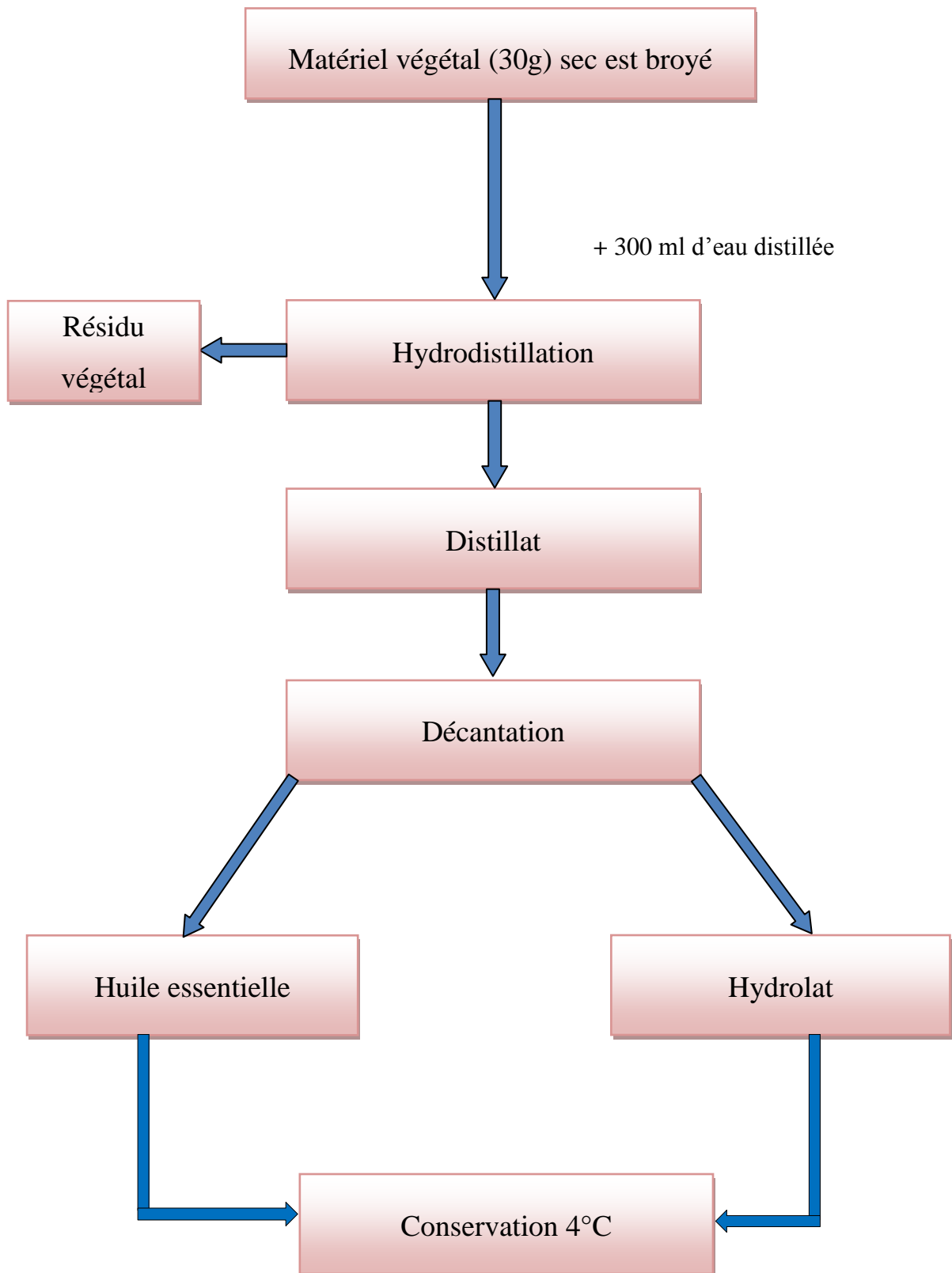


Fig.5 Procédé de l'hydrodistillation de l'HE et l'HY

2-2-1-3 Conservation des extraits

Les extraits (L'huile essentielle et l'hydrolat) sont conservés dans des tubes en verre fermés hermétiquement à 4°C à l'obscurité.

2-2-1-4 Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (R_{HE}) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R_{HE}(\%) = (M' / M) \times 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle de la matière végétale sèche

M' : masse d'huile essentielle exprimée en gramme.

M : masse de la matière végétale sèche exprimée en gramme.

2-2-2 Détermination de l'activité antioxydante

2-2-2-1 Test FRAP (ferric reducing antioxidant power)

a) Principe

Le test FRAP (ferric reducing antioxidant power) permet de mettre en évidence le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle extraite. La détermination de cette activité est réalisée selon la méthode d'Oyaisu avec quelques modifications (Seyed et al., 2010).

b) Mode opératoire

- Dans un tube à essai contenant 1ml de solution d'échantillon (huile essentielle)(1mg /ml), on ajoute **2,5 ml** de tampon phosphate (**0,2 M, pH 6,6**).
- Puis **2,5 ml** d'hexacyanoferrate de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (**10g /l**).
- La solution est chauffée à **50°C** au bain marie pendant **20 minutes** puis on ajoute un volume de **2,5 ml** d'acide trichloracétique (**100 g /l**) à la solution précédente.
- Ensuite le mélange est centrifugée à **3000 tours /min** pendant **10 minutes**.
- Enfin, on mélange **2,5 ml** du surnageant avec **2,5 ml** d'eau distillée et **0,5 ml** de chlorure ferrique [$FeCl_3$] (**1 g /l**).
- Un blanc sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions. La lecture est mesurée à **700 nm**.

L'acide ascorbique est utilisé pour le contrôle positif à fin d'établir une courbe d'étalonnage (Seyed et al., 2010).

2-2-3 Détermination de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques

La méthode de diffusion sur disques ou aromatogramme est une méthode permettant de déterminer l'activité inhibitrice des extraits des plantes sur la croissance des germes par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque de papier watemane imprégné d'huile essentielle ou d'hydrolat puis de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI).

2-2-3 1 Préparation des disques

Les disques de papier watemane (6 mm), enveloppés dans du papier aluminium et conservés dans une boîte de Pétri sont stérilisés par autoclavage (121°C, 15 min).

2-2-3-2 Préparation des dilutions***a) Dilution du DMSO :***

La dilution 10 % du DMSO a été réalisé dans l'eau physiologique (10ml DMSO+90ml d'eau physiologique).

b) Dilutions de l'huile essentielle :

Les concentrations 0,05%, 0,25%, 0,5% de l'huile essentielle sont obtenues par dilution dans du DMSO à 10%.

c) Dilutions de l'hydrolat

Les concentrations 10%, 20%, 30% de l'hydrolat sont obtenues par dilution dans du DMSO à 10%.

2-2-3-3 Souches bactériennes cibles***a) Préparation du milieu de culture***

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton, mais vu le manque de ce milieu au laboratoire, il a été remplacé par la gélose nutritive.

Dissoudre 23g de la gélose nutritive dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis autoclaver pendant 15 min à 121°C et finalement, couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

b) Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes ont étéensemencées sur gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24H. À l'aide d'une anse de platine, quelques colonies de chacune des bactéries à tester ont été prélevées puis déchargées l'anse dans 10 ml de bouillon nutritif. Enfin l'incubation été réalisée à 37°C pendant 18H.

c) Ensemencement et dépôt des disques

Les suspensions des souches cibles ont été ensemencées sur des boîtes Pétri de gélose nutritive dans trois directions différentes, de manière à couvrir toute la surface de la gélose, en utilisant un écouvillon stérile. Après séchage des boîtes, des disques stériles ont été déposés à la surface de la gélose puis chargés avec 4 μ l d'huile essentielle ou de l'hydrolat pur ou avec 4 μ l de différentes concentrations. Des disques imprégnés de DMSO (10%) ont servi de témoin négatif, les boîtes ont été stockées au réfrigérateur pour permettre une meilleure diffusion puis incubées à 37°C durant 24H (Fig .6).

Notons que tous les tests ont été réalisés en triplicata.

d) Lecture des résultats

Après incubation, les boîtes ont été examinées et les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés au moyen d'une règle graduée au millimètre.

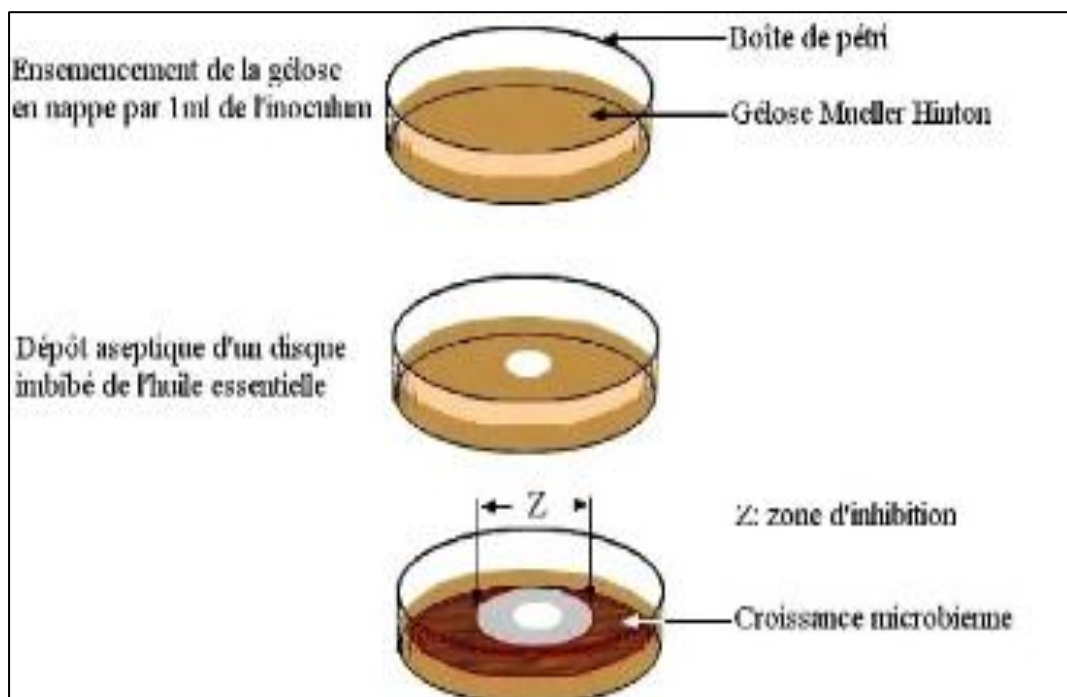


Fig.6 : Illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de Pétri (Zaika, 1988).

- Les statistiques

Les moyennes et les standards de déviation ont été faits, par le logiciel Statistica ANOVA. Voir annexe

2-3 Résultat et discussion

2-3-1 Extraction de l'huile essentielle

2-3-1-1 Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle extraite de *Salvia officinalis* a un aspect liquide mobile, de couleur jaune très pâle, d'odeur aromatique épicée.

2-3-1-2 Caractéristiques organoleptiques de l'hydrolat

- Aspect : liquide limpide.
- Couleur : incolore.
- Odeur : puissante, aromatique.

L'hydrolat extrait de *Salvia officinalis* se présente sous forme d'eau limpide le plus souvent incolore. Il est naturellement parfumé selon les caractéristiques olfactives de *Salvia officinalis*.

2-3-1-3 Détermination du rendement de l'huile essentielle

Le rendement de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* calculé en fonction de la masse végétale sèche est de 0,62%. Cette quantité est petite par rapport à d'autres valeurs obtenues sur la même espèce végétale dont les rendements d'huiles essentielles varient entre 1 et 2,5 % (Brieskorn, 1991). Les variations dans le rendement peuvent être attribuées non seulement à l'origine géographique de la plante, à la nature (sèche ou fraîche) et à la technique d'extraction mais également à la période de la cueillette de la matière végétale ainsi qu'aux facteurs environnementaux et climatiques (Burt, 2003).

2-3-2 Détermination de l'activité antioxydante

L'huile essentielle testée pour la détermination de l'activité antioxydante, a donnée après calculs et détermination graphique les résultats suivants :

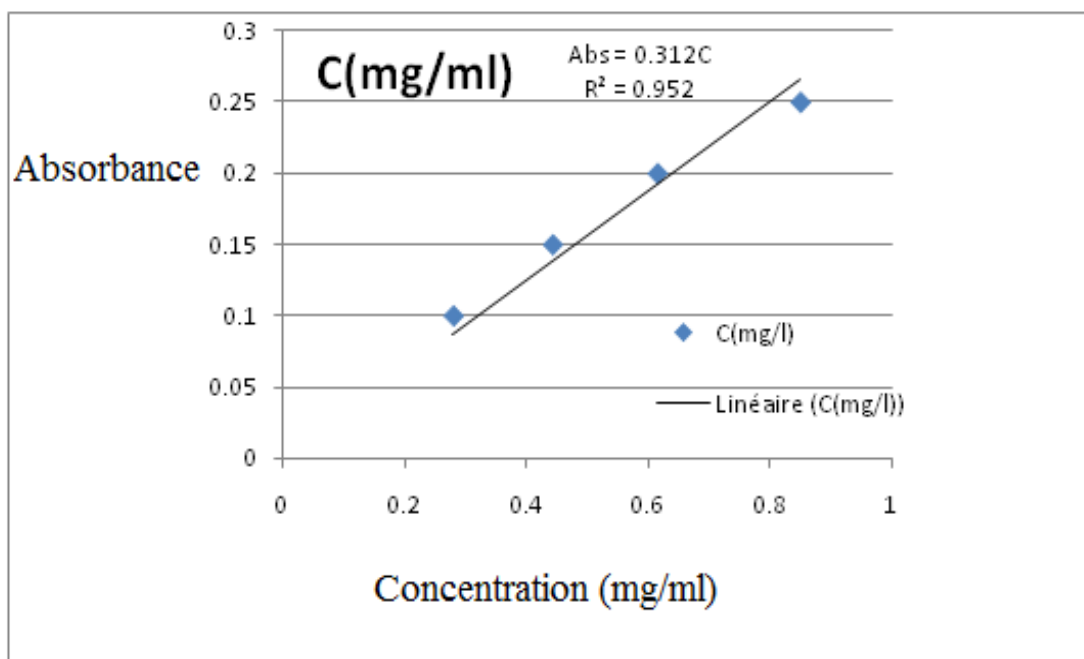


Fig. 7 : Courbe d'étalonnage avec l'acide ascorbique.

Selon la courbe et l'absorbance de l'huile essentielle la concentration équivalente en acide ascorbique égal à 0,24 mg/ml.

D'après les résultats obtenus l'huile essentielle extraite possède une activité antioxydante, donc cette huile est considéré comme agent antioxydant et peut être employée pour des applications thérapeutiques. L'activité antioxydante est étroitement liée à tout le contenu en phénol. Selon Bouzouita *et al.* (2008) l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* possède une activité antioxydante qui est liée à sa composition chimique. Il est difficile d'attribuer cette activité à un seul composé puisque un effet de synergie entre les différents composés peut avoir lieu.

Hinneburg *et al.* (2006) ont constaté que l'hydrodistillation du cumin a une activité antioxydante, qui varie selon le type d'essai utilisé. De même, Gachkar *et al.* (2007) ont constaté aussi que l'activité anti-oxydante diffère selon le test utilisé. L'huile essentielle du romarin est meilleure que celle du cumin dans le balayage du radical libre DPPH. L'activité est meilleure pour les deux types d'huiles dans le test de blanchissement du β - carotène.

2-3-3 Détermination de l'activité antibactérienne

Le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Salvia officinalis* par la méthode de diffusion sur disques sur milieu solide (gélose nutritive) a été estimé en terme des diamètres des zones d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de 13 souches bactériennes pathogènes et responsables de dégradation des aliments dont 7 bactéries à Gram négatif et 6 bactéries à Gram positif. Les résultats obtenus sont illustrés au niveau des tableaux 3, 4, 5,6.

Les résultats testés du DMSO comme solvant, montre que ce dernier n'a présenté aucune zone d'inhibition donc aucune activité sur les toutes bactéries testées.

Tab.3: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur les souches à Gram négatif.

Souches cibles à Gram négatif	Les zones d'inhibition dans les différentes concentrations de l'huile essentielle			
	Pure	C ₁ (0,5%)	C ₂ (0,25%)	C ₃ (0,05%)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	23,66±2,05	12±0,81	11,66±0,47	11,33±0,94
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20,33±1,96	12,66±2,88	9,33±0,22	8±0,81
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	18,66±0,47	9,66±0,47	9,66±0,47	8,66±1,24
<i>Escherichia coli</i> sp. L ⁺ 966	19,33±4,18	9,66±0,47	9±2,16	8±0,81
<i>Pseudomonas</i> sp. 989	9,33±0,47	8,33±0,47	8	7,33±0,47
<i>Klebsiella</i> sp. 970	17,66±2,05	10,33±0,47	9,66±0,47	9,33±0,94
<i>Escherichia coli</i> sp. L ⁻	16,33±3,29	8,33±0,94	8	7,66±0,47

Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle testée est fonction de la bactérie cible. Toutes les souches à Gram négatif testées à l'exception de *Pseudomonas* sp. (9,33 mm) ont montré une sensibilité élevée dans le cas de l'huile essentielle pure avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 16,33 à 23,66 mm. Cependant cette sensibilité a diminué dans le cas d'huile diluée à peu près au 1/2 avec des diamètres des zones d'inhibition de 7,33 à 12,66 mm.

Tab.4: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur les souches à Gram positif.

Bactéries à Gram positif	Les concentrations de l'huile essentielle			
	Pure	C ₁ (0,5%)	C ₂ (0,25%)	C ₃ (0,05%)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	16	11± 0,81	9,66±0,47	9±0,81
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	22±5,71	9,33±0,94	8,66±0,94	8,66±0,94
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 663313	24,33±1,24	12,33±1,24	8,33±0,47	8±0,81
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	19,66±1,88	10,33±0,94	9,66±0,94	9±1,41
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	23,33±0,49	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i> sp. 962	18±1,41	10,33±0,47	10±0,94	9,66±0,47

Globalement l'huile essentielle pure a montré une activité antibactérienne élevée chez l'ensemble des souches à Gram positif testées se traduisant par des zones d'inhibition relativement grandes de (16 à 24,33 mm).

Dans le cas de l'huile essentielle diluée, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a montré une forte résistance se traduisant par une absence totale des zones d'inhibition. Alors que le reste des souches a manifesté une activité faible avec des zones d'inhibition supérieure à 8,00 mm.

Si les extraits doivent être soumis aux essais biologiques, la toxicité du solvant peut également être critique car même en traces, le solvant ne devrait pas empêcher le procédé biologique. Pour cela, le DMSO a été testé comme solvant, les résultats montrent que ce dernier est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance des souches bactérienne testées.

La différence de sensibilité entre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif est une matière à controverse. Il a été remarqué que l'huile essentielle testée dans cette étude a produit globalement une action similaire sur les deux types de bactéries. Ces résultats sont confirmés par les observations rapportées par Marino et al.; (2001) qui ont montré que les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. La forte sensibilité des souches testées à l'huile extraite constatée dans cette étude est comparable aux résultats des travaux de Hammer et al., (1999).

Selon El Akrem et al., (2008), l'huile essentielle de *Salvia officinalis* a montré une activité antibactérienne sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ces résultats sont semblable à celles obtenus par Delamare Longaray et al., (2007), qu'ils sont trouvés que l'huile essentielle de *salvia officinalis* inhibe la croissance de certains souches bactériennes telles que : *Bacillus cereus*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus subtilis*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, et *Klebsiella oxytoca*.

Ce spectre antimicrobien obtenu avec l'huile essentielle de *S. officinalis*, est comparable avec cela rapporté par Hammer, Carson, et Riley (1999) et Marino et al. (2001). Cependant, ils ont observés un effet très faibles sur *E. coli* et *S. aureus*. Cette divergence peut être attribuée aux souches bactériennes et la composition des huiles essentielles utilisées dans chaque étude particulière.

Mohamed. B et al., (2009) a réalisé une étude démontre que l'huile essentielle de *Salvia officinalis*, possède des effets antimicrobiens sur les bactéries, et sur les levures.

Ces effets étaient visibles par les valeurs CMI et la haute réduction de la viabilité des micro-organismes testés obtenus par des basses concentrations de l'huile essentielle. Le spectre de micro-organismes testés ici est assez grand et comporte des pathogènes ou des opportunistes pour l'homme, et pour l'animal ou ceux causant la contamination et la détérioration des aliments, l'eau et l'air. Ces résultats sont confirmés par les observations de Pinto et al., (2007)

et Delamare et *al.*, (2007) qui ont démontrés les effets fongicides et bactéricides d'huiles essentielles de la sauge, mais ces résultats contredisent ceux de Marino et *al.*, (2001) qui a démontré que, les huiles essentielles de la sauge étaient bactériostatique, mais aucun effet bactéricide une forte activité antimicrobienne des huiles essentielles contre presque tous les micro-organismes susceptibles peut être attribué à la présence de haute concentration de monoterpène ayant le potentiel antibactérien et antifongique (Jalsenjak et *al.*, 1987., Sivropoulou et *al.*, 1997., Sur et *al.*, 1991., Yangui et *al.*, 2009).

L'effet inhibiteur positif de ces substances naturelles contre les bactéries a été signalé par de nombreux travaux notamment ceux réalisés sur cinq huiles essentielles de l'Origan et de Thym qui ont provoqué des effets bactériostatiques et bactéricides les plus élevés, que ceux de Laurier et de Clou de girofle sur *Escherichia coli* (Burt, 2003).

Dans ce même contexte, les huiles essentielles de Clou de girofle et d'Origan en particulier le thymol et l'eugénol ont provoqué la lyse cellulaire des bactéries associée à une rapide mortalité rapide sur *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* (Rhayour, 2003).

Une investigation récente réalisée sur l'activité des huiles essentielles isolées de plantes de l'Origan et de Laurier, a signalé un pouvoir inhibiteur sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif entre autre l'inhibition du développement de la souche *Escherichia coli* et *Bacillus cereus* (Ohno et *al.*, 2003). On cite encore des recherches réalisées sur six huiles essentielles obtenues à partir des plantes *Lavandula latifolia* et *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* et *Thymus zygis* où les trois dernières présentent la meilleure activité antibactérienne (Kaloustian L et *al.*, 2008).

Cette activité s'explique par la lyse des membranes bactériennes, une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane et par conséquent des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (Benkherara, 2011).

Tab.5: Activité antibactérienne de l'hydrolat de *Salvia officinalis* sur les souches à Gram négatif.

Bactéries à Gram négatif	Les concentrations de l'hydrolat			
	Pure	C ₁ (30%)	C ₂ (20%)	C ₃ (10%)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10,66±1,88	10	6	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11±2,16	9,33±0,47	9±0	8,33±0,47
<i>Klebsiella Pneumoniae</i> ATCC 700603	8,66±0,47	8,33±1,24	8	8
<i>Escherichia coli sp. L⁺</i> 966	8±0,82	7,66±0,47	6	6
<i>Pseudomonas sp. 989</i>	8,66±0,47	8,33±0,47	8	7,33±0,47
<i>Klebsiella sp. 970</i>	6	6	6	6
<i>Escherichia coli sp. L⁻</i>	10±1,63	8,66±0,94	6	6

Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures.

Il ressort des résultats obtenus que toutes les bactéries testés (à l'exception de *Klebsiella sp*) ont montré une certaine sensibilité à l'hydrolat pur et l'hydrolat dilué 30% se traduisant par des zones d'inhibitions allant de 8 à 11mm environ ; alors que dans le cas des autres dilutions, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas sp* ont montrés presque la même sensibilité que dans le cas de l'hydrolat pur et la concentration 30%.

Alors que le reste des souches ainsi que *klebsiella sp* ont montré une forte résistance (absence totale des zones d'inhibition).

Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures.

Tab.6: Activité antibactérienne de l'hydrolat de *Salvia officinalis* sur les souches à Gram positif.

Bactéries à Gram positif	Les concentrations de l'hydrolat			
	Pure (1 g/ml)	C ₁ (30%) (300 mg/ml)	C ₂ (20%) (200 mg/ml)	C ₃ (10%) (100 mg/ml)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	6	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	6	6	6	6
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 663313	6	6	6	6
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	6	6	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i> sp. 962	6	6	6	6

Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures.

Toutes les souches à Gram positif testées ont montrées une forte résistance à l'hydrolat pur et dilué prouvée par l'absence totale des zones d'inhibitions autour des disques.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'hydrolat par contact direct sur les souches testées montrent que l'hydrolat possède une moindre efficacité sur les bactéries à Gram négatif alors que sur les bactéries à Gram positif il ne représente aucune réaction.

Contrairement aux huiles essentielles, ayant une grande sensibilité sur les bactéries quelque soit positif ou négatif.

Des chercheurs de l'université d'Isparta en Turquie se sont intéressés au potentiel antibactérien d'hydrolats issus d'épices abondamment utilisées en alimentation pour aromatiser les préparations culinaires (Sagdiç et al., 2003). Plusieurs hydrolats d'épices de Turquie ont été testés tels que ceux de romarin (*Rosmarinus officinalis* L), de basilic (*Ocimum basilicum* L), d'origan (*Origanum vulgare* L.) ou encore d'anis (*Pimpinella anisum* L).

L'étude a été réalisée sur plusieurs bactéries pathogènes telles que (*Escherchia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 2392, etc...). Les hydrolats d'origan et de sarriette ont montré une activité bactériostatique très intéressante. Les hydrolats de thym «noir» (*Thym braspicata* L), de cumin (*Cuminum cyminum* L) et d'anis (*Pimpinella anisum* L) ont également montré une activité intéressante contre certaines bactéries.

La forte activité bactériostatique des hydrolats de sarriette et d'origan est due à la présence de carvacrol et de thymol connus pour leur activité antibactérienne d'après Deans et al., (1990) et Farag et al., (1989).

Alors que Boukhatem et al., (2010) ont trouvés que HA de géranium représente une activité antimicrobienne grâce à la présence de certaines molécules (géraniol, linalool, alcool un décylique).

D'après Martin et al., (2006), l'eau aromatique de *Geranium rosat* peut être utilisé pour la préparation de médicaments et de produits cosmétiques contrairement à l'hydrolat de *Salvia officinalis* qui doivent être stériles.

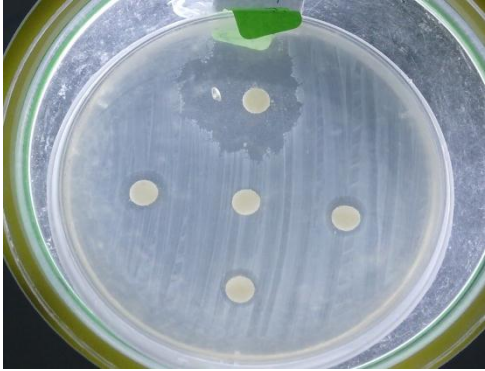
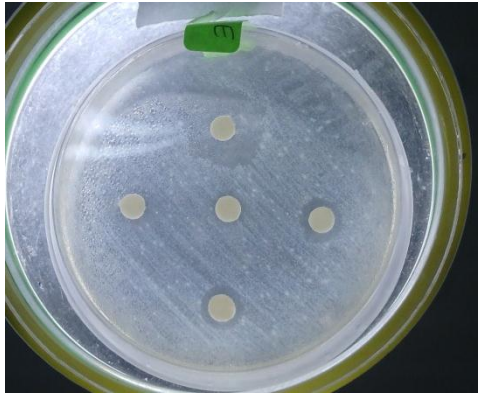
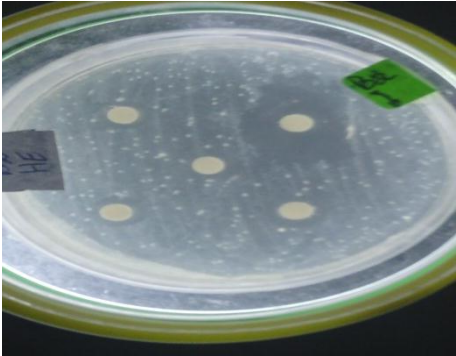
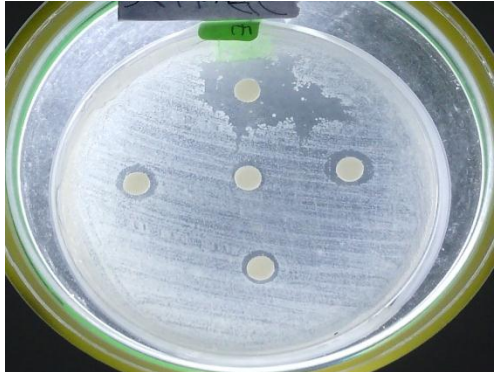
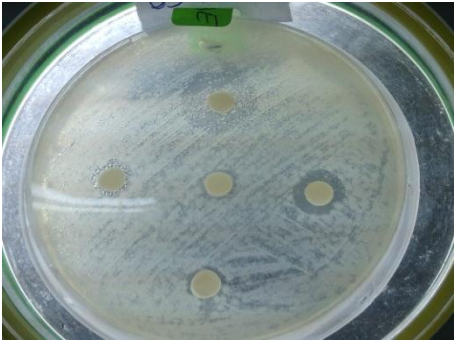
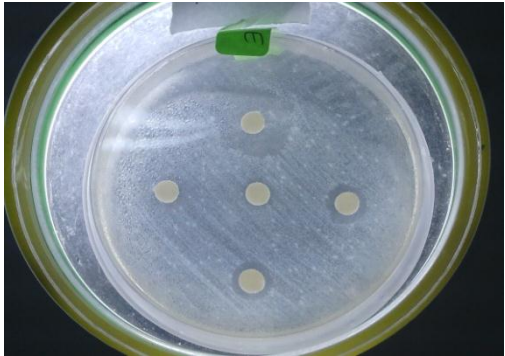
	
<p><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>	<p><i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603</p>
	
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853</p>	<p><i>Escherichia coli</i> sp. L⁺ 966</p>
	
<p><i>Klebsiella</i> sp.970</p>	<p><i>Escherichia coli</i> sp. L⁻ 966</p>

Fig. 8 : L'activité antibactérienne de l'huile essentielle du *Salvia officinalis* sur les bactéries à Gram négatif.

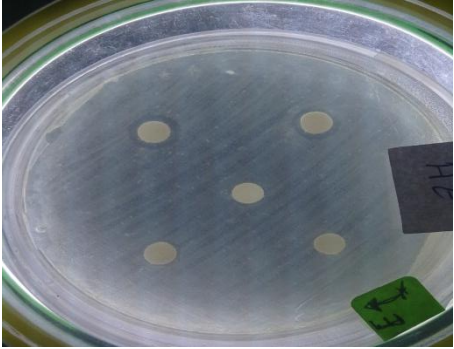
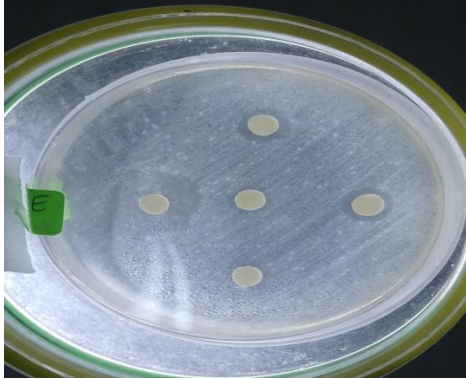
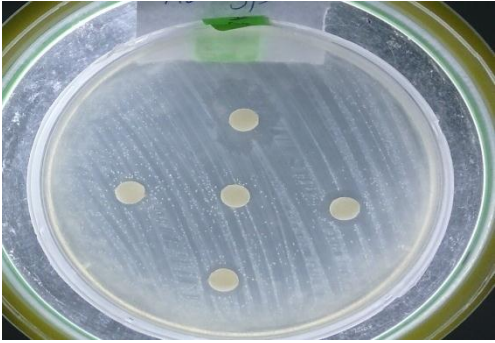
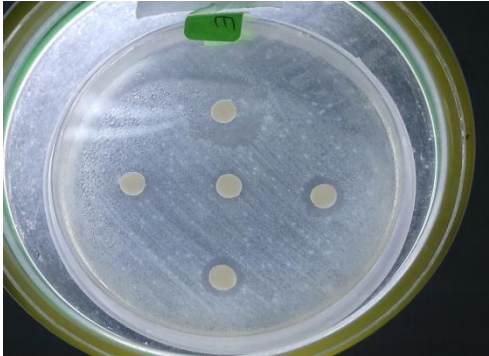
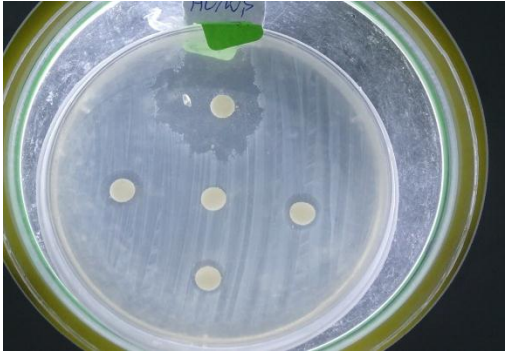
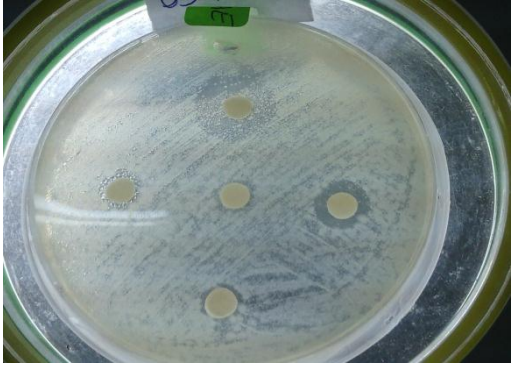
	
<p><i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313</p>	<p><i>Enterococcus faecalis</i> sp. 962</p>
	
<p><i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876</p>	<p><i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452</p>
	
<p><i>Bacillus subtilis</i> ATCC 663313</p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923</p>

Fig. 9 : L'activité antibactérienne de l'huile essentielle du *Salvia officinalis* sur les bactéries à Gram positif

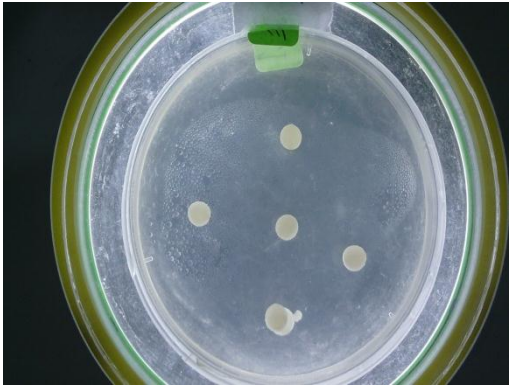
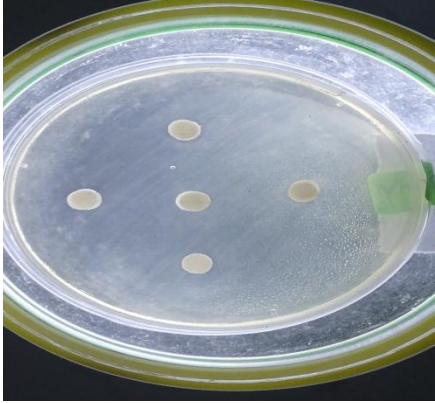
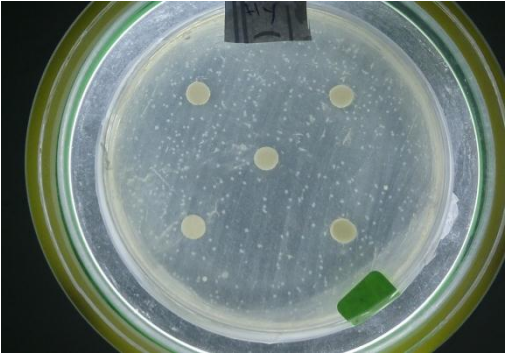
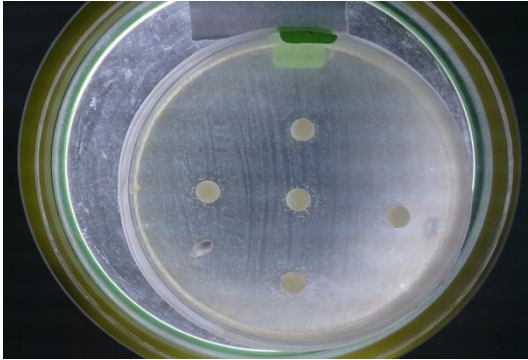
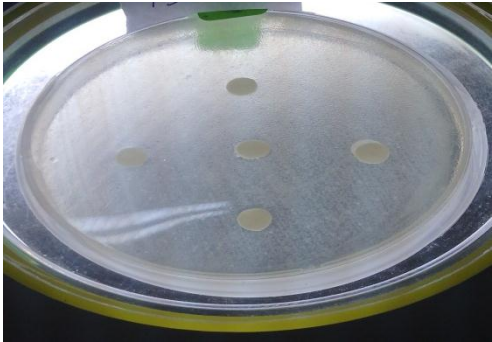
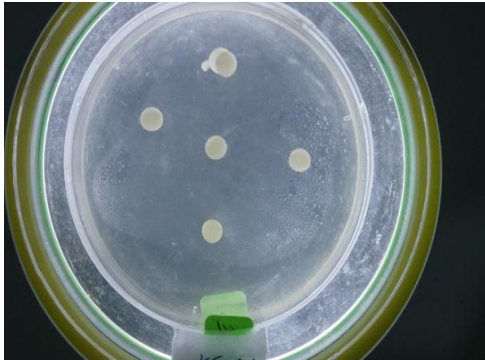
	
<p><i>Enterococcus faecalis</i> sp 962</p>	<p><i>Klebsiella pneumonia</i> ATTC 700603</p>
	
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> 989</p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</p>
	
<p><i>Escherichia.Coli</i> ATTC 25922</p>	<p><i>Escherichia Coli</i> L 966</p>

Fig.10 : L'activité antibactérienne de l'hydrolat de *Salvia officinalis* sur quelques souches bactériennes

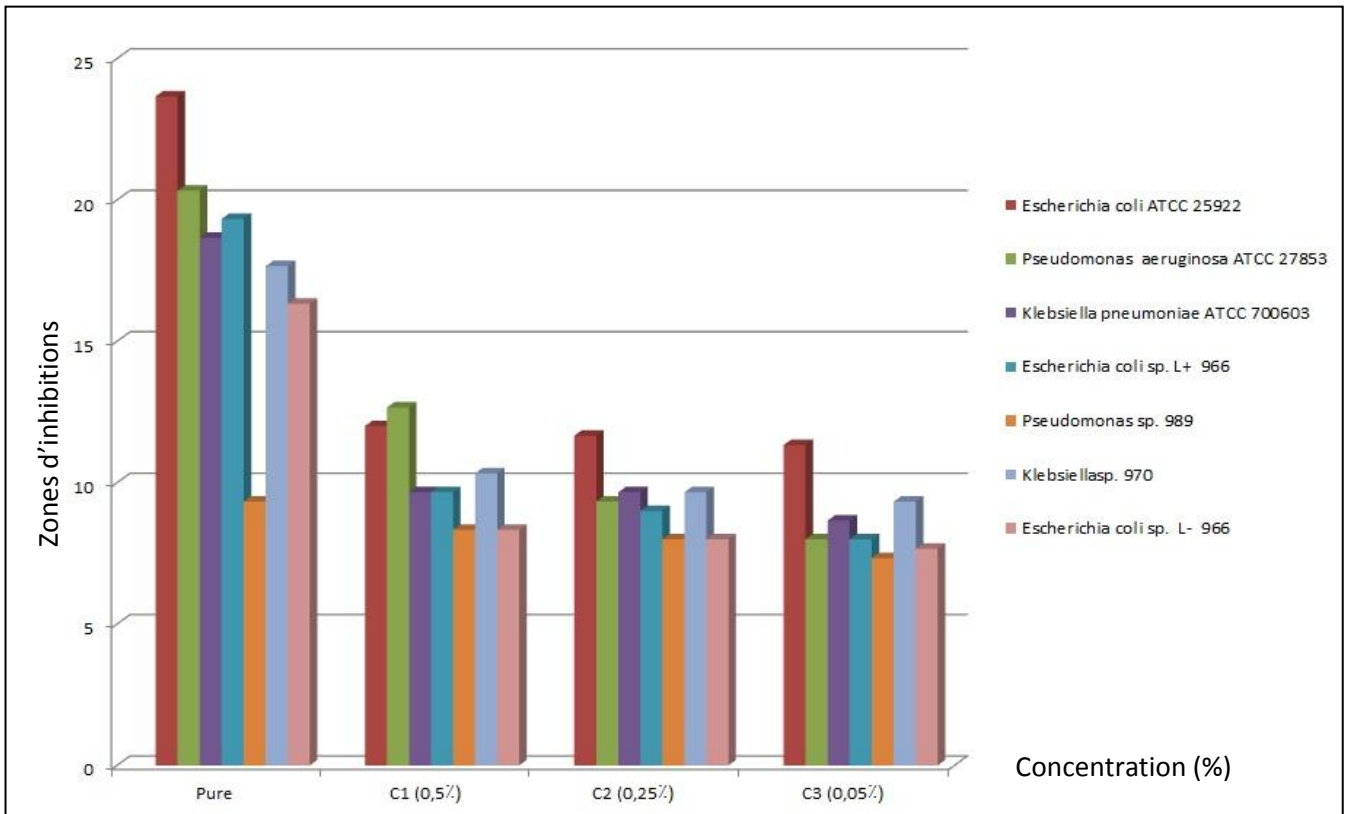


Fig.11 Effet inhibiteur de l'huile essentielle pure et diluée sur les bactéries à Gram négatif

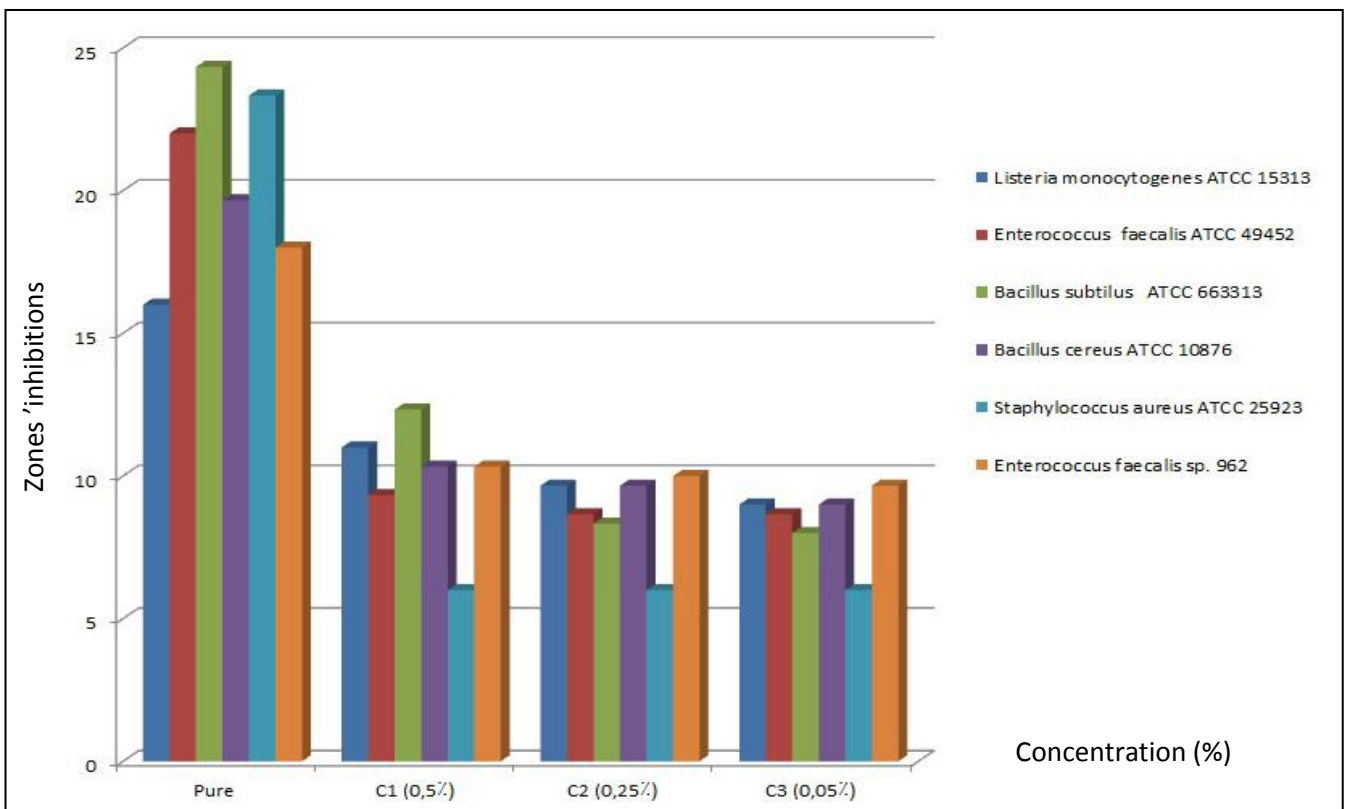


Fig.12 : Effet inhibiteur de l'huile essentielle pure et diluée sur les bactéries à Gram positif

Conclusion

Les médicaments traditionnelles et l'utilisation des plantes en médecine empirique ont souvent été à l'origine des recherches scientifiques de haut niveau. Dans la plupart des cas ces recherches aboutissent à la découverte de substances originales présentant un intérêt thérapeutique considérable. Ces médicaments ont de plus en plus dans la considération du public et des médecins du fait que les plantes peuvent soigner ou contribuer à la guérison, parfois très rapide de nombreuses maladies.

L'étude réalisée sur la plante locale *Salvia officinalis* a abouti à l'extraction d'une huile essentielle ayant un rendement relativement faible par rapport à d'autres études due essentiellement aux divers facteurs environnementaux.

Elle se caractérise par un fort pouvoir antioxydant lui permettant d'être employée dans des applications thérapeutiques sachant que les agents antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention de cancer et des maladies cardiovasculaires.

De l'activité antibactérienne évaluée il ressort que l'huile essentielle possède un pouvoir antibactérien important sur l'ensemble des germes testés pathogènes et responsables de dégradation des aliments. Cependant l'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne et de la concentration de l'huile essentielle testée.

Concernant le pouvoir antibactérien de l'hydrolat, les résultats montrent que ce dernier possède une activité antibactérienne sur les bactéries à Gram négatif plus faible comparés à celle de l'huile essentielle, alors que les germes à Gram positif ont manifestés une forte résistance à cet hydrolat se traduit par une absence totale des zones d'inhibitions, contrairement à l'huile essentielle.

Perspectives : Ce travail mérite d'être complété par les travaux suivants :

- Le pouvoir antifongique et anti-inflammatoire de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Salvia officinalis*.
- L'activité antibactérienne des flavonoïdes de *Salvia officinalis*.
- L'activité antibactérienne des tannins de *Salvia officinalis*.

Références bibliographiques

- Anonyme, (2002).** Pharmacopée européenne. 4ème édition, Strasbourg. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* and *Salvia triloba*.
- Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H. (2000)** Bactériologie clinique. 3^{ème} édition
- Baudoux D. (2000).** L'aromathérapie se soigner par les huiles essentielles Douce Alternative, 38 Biarritz, France, **221**, 6-29.
- Benabdellah M., Benkaddour M., Hammouti B., Bendahhou M., Aouniti A, (2006).** Inhibition of steel corrosion in 2 MH3 PO4 by Artemisia oil Applied Surface Science, **252**, 6212-6217.
- Benkherara Salah., Ouahiba Bordjiba et Ali Boutlelis Djahra, (2011).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis L.* sur quelques entérobactéries pathogènes .Rue synthèse N°23 Université Badji Mokhtar Annaba Algérie.
- Benyadah N, (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines, moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stokes. Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Éclair Département de Chimie Faculté des Sciences de rabat.
- Boukhatem M. N, Hamaidi M.S, Saidi. F, Hakim. Y, Benomier. K, (2010).** Extraction, composition et valorisation de l'eau aromatique de géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) dans la dermopharmacie.
- Bouissy Marie- Noëlle, (2004).** Les eaux distillés et les huiles essentielles: Hydrolathérapie et Aromathérapie, le Grand Chalon.
- Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni M. M. (2008).** Compositions chimiques et activité antioxydante et antibactérienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phœnicea*.
- Brieskorn C.H, (1991)., Burt S.A, (2003).** Antibacterial activity of select plant essential oils against *Escherichia Coli O57147*, Lett. Appl. Microbial., **36**, 162-167.
- Brunetou.J. (1999).** Pharmacognosies : Phytochimie. Plantes médicinales. Ed. TEC et Doc.

Paris, 239-243.

Burt S.A, (2003). Antibacterial activity of select plant essential oils against *Escherichia coli* O 157: 47, Lett. Appl. Microbial., **36**, 162-167.

Catteau M, (2006). Fiche de description de danger transmissible par les aliments: *Listeria monocytogenes*.

Chakou M., Bassou K, (2007). Efficacités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte *Mentha Spicata*.L issue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes: *Echerichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *ccandidaalbicans*. Etude supérieures, Université de Kasdi Merbah Ouargla, 69.

Deans S.G., S voboda K.P, (1990).The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L) .volatile oil. Flavour Frag.J.5, 187-190.

Delamare Longaray., A.P.-L., Ivete T.M.-P., Artico L., Atti- Serafini L., Echeverrigary, S. (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in south Brazil. Food Chemistry **100**, 603–608.

Djerroumi A., et Nacef M. (2004). 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. 135-131.

Dogmos. A. (2008) .Antimicrobial activity of select plant essentiel oils against *Echerichia coli*. Lett. Appl. Microbial. **36** 162-167.

Domaracky M .,RehakP.,JuhasŠ.,KoppelJ. (2007). Effects of Selected Plant Essential Oils on the Growth and Development of Mouse Preim plantation Embryos In Vivo- Physiol. p97-104.

Dorman H.J. D. (2000).Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology*, 308-316.

Dromigny, (2008). (*Bacillus cereu* collection « monographies de microbiologie ». Edition Lavoisier Paris.

Duling E.N., Owen J.C., John B.G., Rosmary F.W., Kevin A.M., Yeap L.F., et Nigel B.P. (2007). Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixture. Food chemistry **101**, 1417- 1424.

- Duraffourd C., Lapraz J C. (2002)** .traité de phytothérapie clinique : endobiogénie et médecine, Masson, Paris.
- Edris A.E. (2007)**, Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review-Phytother, p 308-323. Ellipses (Ed) Paris, 602.
- El Akrem H., Imed C ., Manaf A., Marielle B ., Jean Y. L., Hammami M., Moktar H. (2008)**. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat.
- Fabian, D., Saboľ, M., Domaracké, K., Bujnéková, D. (2006)**. Essential oils their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicol. In vitro* **20**, 1435-1445.
- Farag R.S., Daw Z.Y., Hewedi F. M. (1989)**. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Protect*, **52**, 665-667.
- Gachkar, L., yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I. (2007)**. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem*, **102**, 898-904.
- Garbannelle F., Marmonier A., Pinon G, Vargues R, (1987)**. Bactériologie médicale Techniques usuelles. SIMEP, Paris. France.
- Hadi M, (2004)**. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro oxydant ou capteurs de radicaux libres. Etudes et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université Louis Pasteur.
- Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V, (1999)**. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, **86**, 985–990.
- Hans W.K. (2007)**. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition.
- HART T., SHEARS P. (2002)**. Atlas de poche de Microbiologie Flammarion Médecine Sciences. Paris, 213.

- HELLAL Z, (2011).** Des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Magistère, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 1-8-45-78.
- Hinneburg, I., Dorman H.J.D., Hiltunen, R. (2006).** Antioxidant activities of extracts from select edculinary herbs and spices. *Food Chem*, **97**, 122-129.
- JadotG. (1994).** Antioxydant et vieillissement, John Libbey Eurotext, Montrouge, 34-36.
- Jalsenjak V., Peljnajak S., Kustrak D. (1987).** Microcapsules of sage oil, essential oils content and antimicrobial activity. *Pharmazie* **42**, 419–420
- José M., Fonteau J.M, (2008).** Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie préparation du BP formation, Wouters Kluwer, Paris.
- Kaloustian L., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L., Vergnes M.F., (2008).** Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne, *Phytothérapie*, 160-164.
- Kiel. M. (2004).** Chimie organique, De Boeck, Paris.
- Lamaty. H., Ibrahim.D., and Osman H. (1997).** Antimicrobial activity of *Cassia alata* from malaysia.J. *Elmopharmacol*, **46**, 151.158.
- Longaray D A.P., Ivete T.M.P., Liane A., Luciana A.S., et Sergio E. (2007).**
- Maatoug, H** « Nos plantes médicinales ». Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie, Février 1990.
- Maksimovic M., Danijela V., Mladen M., Marija E.S., Sabaheta A., et Sonja S.Y. (2007).** Effet of the environmental condition on essential oil profile in two dinaric *Salvia* species *Salvia brachyd on vandas* and *Salvia officinalis L.* *Biochemical Systematics and Ecology*. **35**, 473-478.
- Marie C.P, (1998).** assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctoratÉcole Polytechnique Fédérale De Lausanne.
- Marino M., Bersani C., Comi G., (2001).** Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, **67**, 187–195.

- Martini. M.C, (2006).** Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie. Editions Tec & Doc, Paris.
- Mohamed B., Thabèt Y., Sami S, Abdelhafidh D. (2009).** Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L. cultivated in Tunisia
- NATHALIE V, (2006).** L'Aromathérapie comme alternative crédible à l'antibiothérapie. Préparatrice en pharmacie, 20.
- Nauciel C. (2000),** Bactériologie médicale. Masson (Ed).Paris, 276.
- Ohno T., Kila M., Yamaoka Y., Imamura S., Yamamoto T., Mitsufuji S., Kodama T., Kaschima K., Imanishi J.(2003).** Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*, *Helicobacter*, **8**, 207-215.
- Onawunmi C, Militello M, Settanni L, Aleo A, Mammina C, Moschetti G, Giammanco G.(1984).** Chemical composition and antibacterial potential of *Artemisia arborescens* L. essential oil. *Curr Microbiol.* **62**, 1274-81.
- Oussala M., Caill S., Saucier L., Lacroix M. (2006).**Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from Meat Science, 236-244.
- Pengelly A. (2003).** The constituents of medicinal plants, an introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine, 2^{ème} édition.
- Peter K., Vollhardt N.E. (2004).** Schore, Traité de chimie organique, De Boeck, Paris.
- Pinto E., Salgueiro L.R., Cavaleiro C., Palmeira A., Gonczalves M.J. (2007).** Invitro susceptibility of some species of yeasts and filamentous fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. *Ind. Crop. Prod.* **26**, 135–141.
- Radulescu V., Silvia C., et Eliza O. (2004).** Capillary gas chromatography -mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*.
- Rhayour K., (2003).** Mechanism of bactericidal action of Oregano and Clove essential oils and their phenolic major components in *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, *Journal of essential oil research*, 60-62.

- Rao R.B.R., kaul.K. V., Symasundar., Ramesh S. (2002).** Water soluble fractions of rose-scented geranium (*Pelargonium* species) essential oil. *Bioresource Technology*, **84**, 243-246.
- Sagdiç Ô, (2003).** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm- Wiss Technol*, **36**,467-473.
- Sarmi M.P., et Cheymer V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier, 2 -10.
- Seyed F N., Seyed M N., Mohammad A E., Hossein A, (2010).**The antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanica L.*) fruit, stem bark and leaf.
- Sivropoulou A., Nikolaou C., Papanikolaou E., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M. (1997).** Antimicrobial cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. *J. Agr. Food Chem.* **45**, 3197–3201
- Sur S.V., Tuljupa F.M., Sur L.I. (1991).** Gas chromatographic determination of monoterpenes in essential oil medicinal plants. *J. Chromatography.* **542**, 451-458.
- Yangui T., Bouaziz M., Dhouib A., Sayadi, S. (2009).** Potential use of Tunisian *Pituranthus chloranthus* essential oils as natural disinfectant. *Lett. Appl. Microbial.* **48**, 112–117.
- ZAIKA L, (1988).** "Spices and Herbs Their Antimicrobial Activity and its determination" *Journal of Food Safety*, 97-118.

Annexe

Les différents résultats des zones d'inhibitions de l'huile essentielle en fonction des différentes concentrations utilisées :

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATTC 27853				
	C0	C1	C2	C3
	20	11	9	9
	19	13	10	8
	22	14	9	7
Moyenne	20.33	12.66	9.33	8
Ecart type	1.06	2.88	0.22	0.81

<i>Echerichia coli</i> ATTC 25922				
	C0	C1	C2	C3
	26	13	13	12
	24	11	10	10
	21	12	12	12
Moyenne	23.66	12	11.66	11.33
Ecart type	2.05	0.81	0.47	0.94

<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 25923				
	C0	C1	C2	C3
	20	6	6	6
	15	6	6	6
	35	6	6	6
Moyenne	23.33	6	6	6
Ecart type	0.49	0	0	0

<i>Bacillus subtilis</i> ATTC 663313				
	C0	C1	C2	C3
	27	17	10	8
	22	10	8	7
	24	10	7	9
Moyenne	24.33	12.33	8.33	8
Ecart type	0.49	1.24	0.47	0.81

<i>Klebsiella pneumonia</i> ATTC 700603				
	C0	C1	C2	C3
	19	9	9	8
	18	10	10	10
	19	10	10	8
Moyenne	18.66	9.66	9.66	8.66
Ecart type	0.47	0.47	0.47	1.24

<i>Bacillus cereus</i> ATTC 10876				
	C0	C1	C2	C3
	21	11	9	8
	21	11	11	11
	17	9	9	8
Moyenne	19.66	10.33	9.66	9
Ecart type	1.88	0.94	0.94	1.41

<i>Enterococcus faecalis</i> ATTC 49452				
	C0	C1	C2	C3
	25	10	10	10
	14	8	8	8
	27	10	8	8
Moyenne	22	9.33	8.66	8.66
Ecart type	5.71	0.94	0.94	0.94

<i>Listeria monocytogenes</i> ATTC 15313				
	C0	C1	C2	C3
	16	10	10	8
	16	11	10	10
	16	12	9	9
Moyenne	16	11	9.66	9
Ecart type	0	0.81	0.47	0.81

<i>Enterococcus</i> 962				
	C0	C1	C2	C3
	17	11	10	10
	20	10	9	9
	17	10	11	10
Moyenne	17	10.33	10	9.66
Ecart type	1.41	0.47	0.94	0.47

<i>Pseudomonas</i> 989				
	C0	C1	C2	C3
	9	8	10	10
	10	9	10	8
	9	8	9	8
Moyenne	9.33	8.33	9.66	9.33
Ecart type	0.47	0.47	0.47	0.94

<i>Escherichia Coli</i> L ⁺ 966				
	C0	C1	C2	C3
	15	10	12	8
	18	9	8	7
	25	10	7	9
Moyenne	19.33	9.66	9	8
Ecart type	4.18	0.47	2.16	0.81

<i>Escherichia Coli</i> L ⁻ 966				
	C0	C1	C2	C3
	21	8	7	7
	14	9	9	7
	14	8	9	9
Moyenne	16.33	8.33	8	7.66
Ecart type	3.29	0.94	0	0.47

<i>Klebsiella 970</i>				
	C0	C1	C2	C3
	20	10	9	8
	15	10	10	10
	18	11	10	10
Moyenne	17.66	10.33	9.66	9.33
Ecart type	2.05	0.47	0.47	0.94

Les différents résultats des zones d'inhibitions de l'hydrolat en fonction des différentes concentrations utilisées :

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATTC 27853				
	C0	C1	C2	C3
	8	9	9	9
	13	10	9	8
	12	9	9	8
Moyenne	11	9.33	9	8.33
Ecart type	2.16	0.47	0	0.47

<i>Echerichiacoli</i> ATTC 25922				
	C0	C1	C2	C3
	12	10	6	6
	8	10	6	6
	12	10	6	6
Moyenne	10.66	10	6	6
Ecart type	1.88	0	0	0

<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 25923				
	C0	C1	C2	C3
	6	6	6	6
	6	6	6	6
	6	6	6	6
Moyenne	6	6	6	6
Ecart type	0	0	0	0

<i>Bacillus subtilis</i> ATTC 663313				
	C0	C1	C2	C3
	6	6	6	6
	6	6	6	6
	6	6	6	6
Moyenne	6	6	6	6
Ecart type	0	0	0	0

<i>Klebsiella pneumonia</i> ATTC 700603				
	C0	C1	C2	C3
	8	7	8	8
	9	9	8	8
	9	9	8	8
Moyenne	8.66	8.33	8	8
Ecart type	0.47	1.24	0	0

<i>Bacillus cereus</i> ATTC 10876				
	C0	C1	C2	C3
	6	6	6	6
	6	6	6	6
	6	6	6	6
Moyenne	6	6	6	6
Ecart type	0	0	0	0

<i>Enterococcus faecalis</i> ATTC 49452				
	C0	C1	C2	C3
	6	6	6	6
	6	6	6	6
	6	6	6	6
Moyenne	6	6	6	6
Ecart type	0	0	0	0

<i>Listeria monocytogenes</i> ATTC 15313				
	C0	C1	C2	C3
	6	6	6	6
	6	6	6	6
	6	6	6	6
Moyenne	6	6	6	6
Ecart type	0	0	0	0

<i>Enterococcus</i> 962				
	C0	C1	C2	C3
	6	6	6	6
	6	6	6	6
	6	6	6	6
Moyenne	6	6	6	6
Ecart type	0	0	0	0

<i>Pseudomonas</i> 989				
	C0	C1	C2	C3
	9	9	8	8
	8	8	8	7
	9	8	8	7
Moyenne	8.66	8.33	8	7.33
Ecart type	0.47	0.47	0	0.47

<i>Escherichia Coli</i> L ⁺ 966				
	C0	C1	C2	C3
	7	7	6	6
	8	8	6	6
	9	8	6	6
Moyenne	8	7.66	6	6
Ecart type	0.82	0.47	0	0

<i>Klebsiella 970</i>				
	C0	C1	C2	C3
	6	6	6	6
	6	6	6	6
	6	6	6	6
Moyenne	6	6	6	6
Ecart type	0	0	0	0