



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de 08 mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la Terre et de l'Univers

Département d'écologie et du génie de l'environnement

Mémoire de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

Spécialité/Option : Microbiologie de l'environnement : Santé, Eau, et Environnement

**Thème : Evaluation de l'activité antibactérienne d'une plante
médicinale « *Lavandula stoechas L.* »**

Présenté par :

Melle : BOUAZIZ LOUIZA

Melle : LAHEG MADIHA

Devant le jury :

Présidente : Mme : **Boumaza Awatef** M.A.A Université 8 mai 1945 - Guelma.

Examinatrice : Mme : **Benhalima Lamia** M.A.A Université 8 mai 1945 - Guelma.

Encadreur : Mme : Amri Sandra M.A.A Université 8 mai 1945 - Guelma.



Remerciement

Nous tenons tout particulièrement à remercier vivement Mme **Boumaza Awatef**, maître assistant à l'Université de Guelma d'avoir accepté de présider le jury.

Nous s'exprimons nos sincères remerciements à Madame **Benhalima Lamia**, maître assistant à l'université de Guelma d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nous remercions d'une façon toute particulière notre encadreur Mme Amri Sandra de nous avoir accordé l'honneur de diriger ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, plus particulièrement les techniciennes du laboratoire de microbiologie et d'écologie : *Hassiba, Houda et Wafa* sans oublier nos collègues et nos amies.

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.

A mes sœurs pour leur aide précieuse durant toutes mes années d'étude.

Et tous mes proches

A ma camarade de travail : Louiza

A tous mes collègues et mes amies

Madiha

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes chers parents, pour tous les efforts qu'ils ont consentis, pour leur soutien et leur encouragement, qu'ils trouvent en ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

A mes frères et sœurs, pour leur aide précieuse durant toutes mes années d'études.

A mes neveux : Assil, yahya, katralnada, qui m'ont donnée le sourire et la joie de vivre.

A ma camarade de travail Madiha et mes amies.

Louiza

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ARN m : Acide ribonucléique messenger.

ARN-t : Acide ribonucléique transport.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CMB : Concentration minimale bactéricide

DMSO : Diméthyle Sulfoxyde.

GN : Gélose Nutritive.

MH : Muller Hinton.

mg: Milligramme.

ml : Millilitre.

mm: Millimètre.

NaCl : Chlorure de sodium.

PABA: Acide paraminobenzoïque.

THF: Tétrahydrofolate.

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

h : heures

Liste des tableaux

Tableaux	Pages
Tableau 1 : Classification biochimique des antibiotiques.....	05
Tableau 2 : Diamètres des zones d'inhibition des souches de références testés par certains antibiotiques.....	12
Tableau 3 : Photos present de l'action de certains antibiotiques sur les souches de références.....	13
Tableau 4 : Diamètres des zones d'inhibition des souches de références testés par les 3 extraits...	14

Tableau 5 : Photos present de l'action antibactérienne de l'extrait méthanolique (S1).....	16
Tableau 6: Photos present de l'action antibactérienne de l'extrait brut (S2).....	17
Tableau 7: Photos present de l'action antibactérienne de l'extrait butanolique (S3).....	18
Tableau 8 : Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des 2 extraits.	19

Liste des figures

Figures	Pages
Figure 1 : Photo de l'espèce <i>Lavandula stoechas</i> L.....	02
Figure 2 : Mode d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne.....	08

Liste des tableaux

Tableaux

Pages

Tableau 1 : Classification biochimique des antibiotiques.....	05
Tableau 2 : Diamètres des zones d'inhibition des souches de références testés par certains antibiotiques.....	12
Tableau 3 : Photos present de l'action antibactérienne de certains antibiotiques sur les souches de référence.....	13
Tableau 4 : Diamètres des zones d'inhibition des souches de référence testés par les 3 extraits...	14
Tableau 5 : Photos present de l'action antibactérienne de l'extrait méthanolique (S1).....	16
Tableau 6: Photos present de l'action antibactérienne de l'extrait brut (S2).....	17
Tableau 7: Photos present de l'action antibactérienne de l'extrait butanolique (S3).....	18
Tableau 8 : Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des 2 extraits.	19

Sommaire

Titre des matières	pages
Introduction	01
Synthèse bibliographique	
1. Botanique de la plante	02
1.1. Caractérisation de la plante	02
1.2. Répartition géographique	02
1.3. Classification	03
1.4. Composition chimique	03
1.5. Intérêt en phytothérapie	04
2. Résistance bactérienne aux antibiotiques	04
2.1. Définition d'un antibiotique.....	04
2.2. Classification des antibiotiques.....	05
2.3. Résistances bactériennes aux antibiotiques	06
2.3.1. Les principaux mécanismes de résistance	06
2.3.2. problèmes causés par les bactéries résistantes.....	07
2.4. Mode d'action des antibiotiques.....	07
Matériel et méthodes	
1. Préparation des extraits	09
1.1 Récolte du matériel végétal	09
1.2. Conservation	09
1.3. Extraction	09
2. Souches bactériennes	09
3. Milieux de culture utilisée	09
4. Étude de l'activité antibactérienne.....	10
4.1. Préparation des extraits	10
4.2. Préparation des disques.....	10
4.3. Méthode de diffusion en milieu gélosé	10

4.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice et Bactéricide.....	10
5. Etude statistique	11

Résultats et discussion

1. Etude de la sensibilité des souches de références aux antibiotiques	12
2. Etude de l'activité antibactérienne des extraits.....	14
3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide des extraits testés.....	19

Conclusion	20
-------------------------	----

Synthèse bibliographique	21
---------------------------------------	----

Annexe	24
---------------------	----

Résumés	25
----------------------	----

Introduction

Le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives (**Ferrari, 2002**), sur 250 à 300 000 espèces inventoriées sur terre, seulement 5 à 15% ont fait l'objet de recherches de molécules bioactives, ce qui représente un réservoir immense de nouveaux composés bioactives. Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques (**Bérubé-Gagnon, 2006**).

L'utilisation des plantes en thérapeutique est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent (**Marc et al., 2001**), selon l'OMS, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui constituent 90% de la médecine traditionnelle. En 2004, près de 75% de la population africaine avait recouru aux plantes qui l'entouraient pour se soigner (**Pousset, 1989**).

Les plantes aromatiques ont été utilisées dans la médecine traditionnelle depuis longtemps car elles sont très riches en substances bioactives (les huiles essentielles, poly-phénols,.....) elles présentent une importante activité biologique : antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire, anti-cancérogène, et anti-oxydante. (**Bahorun et al., 1996**). C'est pour cela nous nous sommes intéressés à une plante aromatique poussant à l'état spontané dans la région de Seraïdi (wilaya d'Annaba) et qui est fréquemment employé par les habitants, ce travail vise à étudier l'activité antibactérienne de *Lavandula stoechas* L., sur la croissance *in vitro* de 3 souches de références: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus* d'une part, par la méthode de diffusion sur disque et d'autre part par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

Notre travail sera donc réparti en 4 chapitres, le premier chapitre un abrégé de l'histoire de l'utilisation de la lavande ainsi que les objectifs de ce travail. Le chapitre II s'intéresse aux méthodologies utilisées pour la réalisation de ce travail. Le troisième chapitre, présente les résultats obtenus. Le dernier chapitre reprendra les conclusions et discutera des perspectives de ce travail.

I. Botanique de la plante

I.1. Caractéristiques botaniques

Le nom Lavande dérive du latin "lavare" qui signifie lavé (Chu et Kemper, 2001), appartenant à la famille des Labiées (Fernandez, 2003). Le genre *Lavandula* se compose d'environ 28 espèces, qui sont dans la plupart d'origine méditerranéenne (Maganga, 2004), c'est un sous-arbrisseau à tiges et feuilles persistantes jusqu'à 1 mètre de longueur étroit et vert pâle, peuvent s'étendre du gris bleuâtre profonde au vert à brun pâle (Chu et Kemper, 2001), les fleurs présentent une couleur bleu – violet, cependant il existe d'autres variétés à fleurs blanches et roses, l'ensemble de la plante est très aromatique (Allaby, 1992).

L'espèce *Lavandula stoechas* L., est une plante tendre qui préfère les endroits ensoleillés et les sols riches, les tiges étroites sont quadrangulaires à feuilles opposées, tendent à être plus vertes que grises, à son extrémité une inflorescence terminée par un toupet de longues bractées violettes (Chu et Kemper, 2001).



Figure 1 : Photo de l'espèce *Lavandula stoechas* L. (Anonyme 1).

I.2. Répartition géographique

Plusieurs espèces de *Lavandula sp* se développent à l'état sauvage dans les sols rocheux de l'Europe (Espagne, Portugal, et la France), l'Afrique, la Russie, la Turquie, le Pakistan et l'Inde. Actuellement, elles sont cultivées dans les sols calcaires des pays méditerranéens aussi bien que d'autres régions particulièrement la Bulgarie et les

pays de l'ancienne Yougoslavie (**Wiesenfeld, 1999**). L'espèce *Lavandula stoechas* L., est largement distribué dans les îles canaris, Islande, Afrique du Nord, Afrique tropical, et le Sud West de l'Asie (**Upson et al., 2000**).

I.3. Classification

La classification de la lavande a été réalisée selon **Quezel et Santa (1963)**, elle fait partie :

Règne : **Plantea**

Sous règne: **Plantes vasculaires**

Embranchement: *Spermaphytes*

Sous- Embranchement: **Angiospermes**

Classe: **Dicotyledones**

Sous classe : *Dialypétales*

Ordre: *Lamiales*

Famille: *Lamiaceae*

Genre: *Lavandula*

Espèce : *Lavandula stoechas* L.

I.4. Composition chimique

Selon **Ferrerres et al., (1986)** ; **Mastelic et Kustrak (1997)**. Les constituants potentiellement actifs du genre *Lavandula* sont :

- ✓ Mono-terpènes: α -pinène, β pinène, β -ocimène, camphre, limonène, p-cymène, sabinène, terpinène.
- ✓ Mono-terpènes alcools: α terpinéol, bornéol, lavandulol, linalool, p-cymen-8-ol, trans-pinocarveol.
- ✓ Mono-terpènes aldéhydes : aldéhyde de cumin.
- ✓ Mono-terpènes éthers : 1,8-cinéole.
- ✓ Mono-terpènes esters: acétate de linalyl, acétate de terpenyl.
- ✓ Mono-terpènes cétones: carvone, coumarine, cryptone, fenchone, methylheptenone, n- octanone, nopinone, p-méthylacétophène.
- ✓ Benzénoïdes : eugénol, coumarine, carvacrol, acide hydroxycinnamique, acide rosmarinique, thymol.

- ✓ Sesquiterpènes: caryophyllene, oxide de caryophyllene, α -photosantanol, α -santalal, α -norsantalenone.
- ✓ Des traces de nombreux autres composés, tels que flavonoïdes.

Lavandula stoechas L., renferme différents composés phytochimiques : α - pinène, β - pinène, β - santalene, bornéol, camphre, caryophyllene, coumarine, géraniol, limonène, linalol, lutéoline, 1,8-cinéole, acide rosmarinique, tannin, umbelliférone, acide ursolique.

I.5.Intérêt en phytothérapie

La Lavande a été traditionnellement utilisée comme plante aromatique, culinaire, décoratif et cosmétique (Maganga, 2004). Elle a une longue histoire en usage médicinal, beaucoup de variétés sont cultivés autours du monde mais au moins 5 espèces différentes sont employées en médecine, elle a été employé par les romains et les africains pour parfumer les bains et l'entretins du linge, l'armée romaine l'utilisait comme désinfectant. Les égyptiens employés les fleurs dans le processus de momification, dans la médecine chinoise traditionnelle on l'utilisé pour traiter l'infertilité, l'infection, l'angoisse et la fièvre. La médecine arabe l'utilisait pour les problèmes rénaux et stomachiques. Aujourd'hui, la lavande est généralement utilisée dans la préparation des parfums, des savons et en aromathérapie, son essence est recommandée pour traiter la dépression, la fatigue et l'hypertension (Chu et Kemper, 2001). Elle est aussi employée comme antispasmodique et désinfectant, son huile essentielle est employée comme remède contre les infections du colon, elle possède des propriétés antimicrobiennes, anti-carcinogènes (Gören *et al.*, 2002), anxiolytiques, analgésiques, anti-oxydantes, anti-inflammatoires et insecticides (Chu et Kemper, 2001).

II. Résistance bactérienne aux antibiotiques

II.1. Définition d'un antibiotique

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique (élaborée par un organisme vivant), substance chimique (produite par synthèse) ou substance semi synthétique (obtenue par modification chimique d'une molécule naturelle) qui peuvent inhiber ou détruire spécifiquement les bactéries sans être toxiques pour l'hôte (Pilly, 1975).

II.2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques n'est pas aisée, ils peuvent être regroupés selon leur nature, origine, mode d'action, spectre d'activité. A l'heure actuelle les antibiotiques sont regroupés selon leur nature biochimique (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification biochimique des antibiotiques (Joffin et Leyral, 2006).

Classe d'antibiotiques	Exemples
Aminosides	Streptomycine, kanamycine, Gentamicine
β -lactamines - Penicillines	Penicilline G, Ampicilline
β -lactamines-Cephems et Oxacephems	Cefalotine, Céfotaxime
β -lactamines- Monobactams	Aztréonam
Fosfomycine	Fosfomycine
Lincosamides	Clindamycine, Lincomycine
Macrolides	Erythromycine, spiramycine
Nitrofuranes	Nitrofurantoïne
Nitro-5- Imidazolés	Métronidazole
Phénicoles	Chloramphénicol thiamphénicol
Polypeptides	Bacitracine, colistine polymyxine
Quinolones	Acide naldixique
Sulfamides et sulfones	Sulfaméthoxazole triméthoprim
Streptogramines	Pristinamycine virginiamycine
Tetracyclines	Tétracycline minocycline
Vancomycines	Vancomycine

II.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques

Les mécanismes génétiques et biochimiques responsables de la résistance bactérienne aux antibiotiques permettent de mieux comprendre l'épidémiologie et d'appréhender les facteurs responsables (**Joffin et Leyral, 2006 ; Senez, 1968**) :

II.3.1. Les principaux mécanismes de résistance

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leurs introductions dans le traitement des maladies infectieuses, les principaux mécanismes élucidés à ce jour sont principalement (**Joffin et Leyral, 2006 ; Senez, 1968**) :

- ✓ **Perméabilité limitée à l'antibiotique** : les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants, le plus souvent aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masses moléculaires élevées, car ces antibiotiques ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi.
- ✓ **Production d'enzymes inactivant l'antibiotique** : certaines bactéries produisent des enzymes comme β -lactamases, enzymes présentes dans l'espace péri-plasmique de la bactérie. Elles permettent la destruction de l'antibiotique avant qu'il puisse atteindre leurs cibles.
- ✓ **Résistance par transfert de gènes** : Elle est due à l'acquisition d'un plasmide ou d'un transposon codant pour des protéines conférant une résistance accrue à des familles d'antibiotiques, elle peut être transmissible entre bactéries d'espèces différentes.
- ✓ **Résistance par mutation chromosomique** : Elle est due à des mutations qui se produisent au hasard sur le chromosome bactérien, la mutation chromosomique ne s'exerce que vis-à-vis d'un seul antibiotique et n'est en principe pas transférable d'une espèce bactérienne à l'autre.
- ✓ **Modification de la cible ou absence de récepteur** : modification des PLP (protéines liant les pénicillines) sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la

biosynthèse du peptidoglycane et qui est la cible des β -lactamines. La fixation des β -lactamines aux PLP empêcherait la synthèse du peptidoglycane.

II.3.2. Problèmes causés par les bactéries résistantes

L'utilisation massive des antibiotiques à provoquer la généralisation de la résistance bactérienne, ce qui peut se répercuter sur l'être humain comme suite (**Anonyme 2**) :

- ✓ Propagation des infections nosocomiales.
- ✓ Augmentation des interventions chirurgicales.
- ✓ Utilisation d'antibiotiques plus coûteux.
- ✓ Échec du traitement et risque de complications.
- ✓ Prolongation de la durée de séjour en établissement hospitalier.
- ✓ Augmentation du taux de mortalité.

II.4. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques mettent en jeu des mécanismes d'action d'une grande diversité en relation avec la variété de leur structure chimique et la pluralité des germes contre lesquels ils peuvent être appliqués (**Joffin et Leyral, 2006 ; Ferron, 1984**).

- ✓ **Action sur la paroi bactérienne** : L'antibiotique peut bloquer la synthèse de la paroi et la cellule bactérienne peut exploser sous l'effet de la pression osmotique interne.
- ✓ **Action sur la membrane cellulaire** : L'antibiotique peut agir sur les lipides membranaires, il désorganise la bio-couche phospholipidique membranaire, ce qui entraîne les éléments hydrosolubles à l'extérieur de la cellule.
- ✓ **Action sur l'ADN** : L'antibiotique peut se fixer sur les brins de l'hélice de l'ADN et empêcher la réplication en bloquant la progression de l'ADN polymérase.

- ✓ **Action sur les ribosomes bactériens** : De nombreux antibiotiques utilisés en thérapeutique ont pour cible les ribosomes bactériens. L'antibiotique se fixe soit sur la petite ou la grosse sous-unité, ce qu'inhiberait la synthèse des protéines.
- ✓ **Transcription** : L'ARN polymérase assure la transcription de l'ARNm nécessaire à la synthèse des protéines. Certains antibiotiques peuvent bloquer la transcription de l'ADN en se fixant sur l'ARN polymérase bactérienne.
- ✓ **Anti métabolite** : Certains antibiotiques peuvent agir comme des agents anti-métabolites, ils bloquent le fonctionnement des voies métaboliques en inhibant par compétition l'utilisation de métabolites par des enzymes clés.

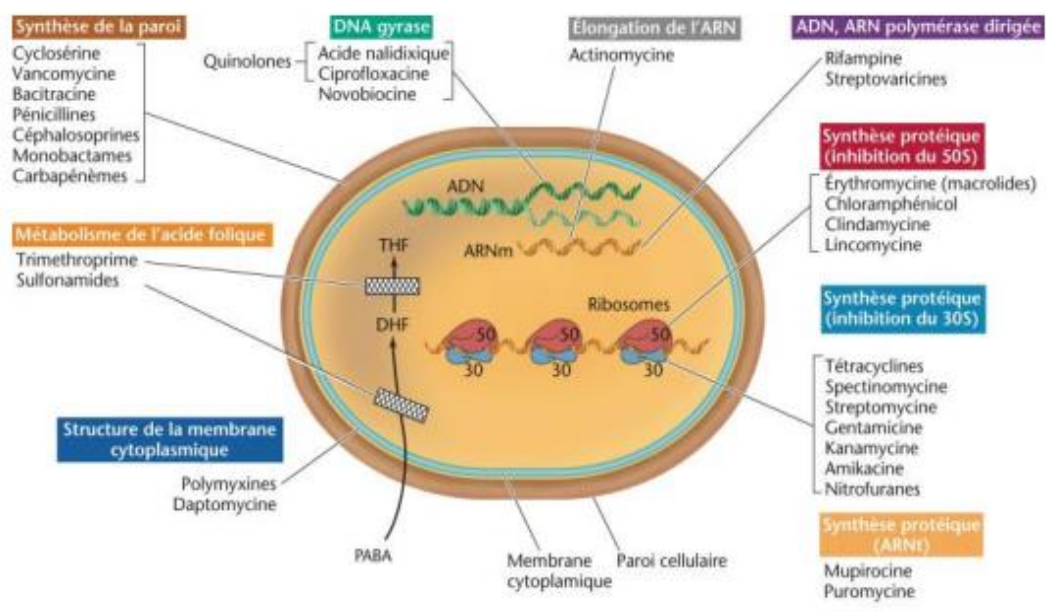


Figure 2 : Mode d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne (Anonyme 2).

Matériel
et
Méthodes

1. Préparation des extraits

1.1 Récolte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour cette étude est constitué de la partie aérienne de *Lavandula stoechas L.*, cette dernière est récoltée de la région de Seraïdi (wilaya d'Annaba) le 01 Mars 2014.

1.2. Conservation

La plante, fraîchement récoltée, est lavée et séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré puis broyée en poudre pour qu'elle soit prête à l'utilisation.

1.3. Extraction

Afin de réaliser notre travail 3 extraits (méthanolique (S1), brut (S2) et butanolique (S3)) ont été utilisés, l'extraction a été réalisée au laboratoire EMMAL (Eco-biologie des milieux marins et littoraux - université de Badji Mokhtar d'ANNABA) sous la direction de Melle : Amina Bouzitouna- M.A.A au département de biochimie. Une macération a été réalisée sous agitation durant 24 h de la poudre, les filtrats étaient évaporés au Rotavapeur afin d'éliminer les solvants d'extractions, puis lyophilisés et conservés dans des flacons stériles hermétiquement fermés.

2. Souches bactériennes

Les germes utilisés sont des souches de référence ATCC, et constituent d'excellents modèles pour la recherche de l'effet antibactérien des substances naturelles ou de synthèses. Ces souches sont conservées sur une gélose inclinée à 4°C :

- *Escherichia coli* ATCC 25922 (bactérie à Gram négative).
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (bactérie à Gram négative).
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (bactérie à Gram positive).

3. Milieux de culture utilisés

Suivant les méthodes employées et les souches étudiées, les milieux de culture utilisés sont les suivants : gélose nutritive (GN), gélose Chapman, gélose Muller Hinton (MH), et le bouillon Muller Hinton. La composition des milieux de culture est indiquée en annexe **Joffin et Leyral (2006)**.

4. Étude de l'activité antibactérienne.

4.1. Préparation des extraits

Les 3 extraits secs préparés au paravent (méthanolique (S1), brute (S2), butanolique (S3)), sont repris dans du DMSO à raison de 200 mg/ ml.

4.2. Préparation des disques

Des disques de papier buvard de 6 mm de diamètre sont imprégnés avec 50, 100 et 200 μ l de chaque solution mère, correspondant respectivement à 10, 20 et 40 mg d'extrait par disque. Des disques imprégnés de DMSO sont utilisées comme témoin négatif.

4.3. Méthode de diffusion en milieu gélosé

L'activité antibactérienne de 3 extraits est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par **Bauer et al. (1966)** et reprise par **Barry et al. (1985)**. A partir de colonies jeunes de 18 à 24 heures, une suspension bactérienne est réalisée dans de l'eau physiologique stérile à 0.9% de NaCl pour chaque souche bactérienne. La turbidité de cette suspension est ajustée à 0,5 Mc Farland puis diluée afin d'obtenir un inoculum de 10⁶ bactéries/ml. Cet inoculum est étalé à l'aide d'un écouvillon sur boîtes Pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton. Les disques imprégnés des différents extraits sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose. Il est de même pour les disques imprégnés de DMSO et les disques d'antibiotiques utilisés comme témoin positif. Les boîtes Pétri sont d'abord laissées pendant 2 h à 4°C pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 h. L'évaluation de l'inhibition est réalisée par mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque.

4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide.

La détermination de la CMI et de la CMB été réalisée selon la méthode décrite par (**Bolou et al., 2010**). La CMI est préparée selon la méthode de double dilution, une gamme de concentrations stérile allant de 100 à 1.25 mg/ml été préparée pour chaque extrait, on prépare également pour chaque souche bactérienne un inoculum dont la turbidité est ajustée à 0,5 Mc Farland puis diluée à 10⁶ bactéries /ml dans du bouillon Mueller-Hinton. Ensuite on ajoute dans des tubes à hémolyse, 1 ml de chaque concentration et 1 ml d'inoculum bactérien (10⁶ bactéries/ml), les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 heures. Après incubation, on examine la croissance bactérienne dans chaque tube qui se traduit par une turbidité. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée sera la plus petite concentration ne montrant aucune croissance visible.

Pour déterminer la CMB, on réalise 24h plus tôt, un témoin bactéricide en ensemençant par stries une gélose nutritive en boîte Pétri, la solution mère et les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} de l'inoculum de départ correspondant respectivement à 100%, 10%, 1%, 0,1% et 0,01% de survivants. Après la lecture de la CMI on effectue des repiquages en stries en gélose nutritive des tubes sans croissance visible. Ces repiquages sont ensuite incubés à 37 °C pendant 24 h, après on compare les stries au témoin bactéricide. La CMB sera la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0,01% de survivants.

5. Etude statistique

L'étude statistique a été réalisée par le logiciel statistique MINITAB (Version13). Toutes les expériences ont été réalisées en triple, Les résultats sont représentés sous forme : moyenne \pm écart type. Les résultats sont soumis à l'analyse de la variance à un seul facteur (AV1), les différences ont été considérées significatives à une probabilité $P \leq 0.05$.

Résultats
et
Discussion

1. Etude de la sensibilité des souches de référence aux antibiotiques

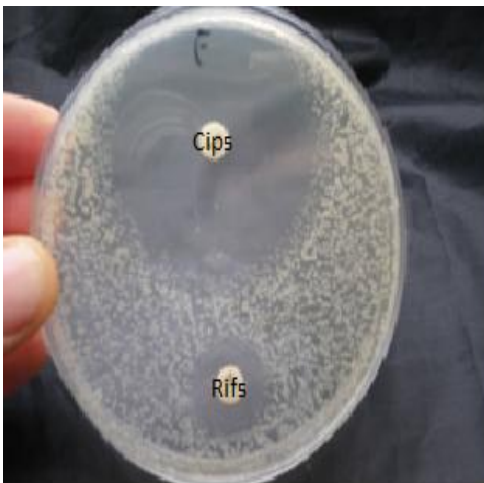
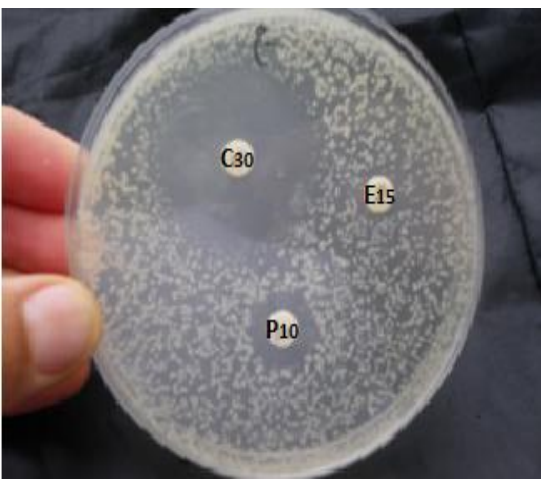
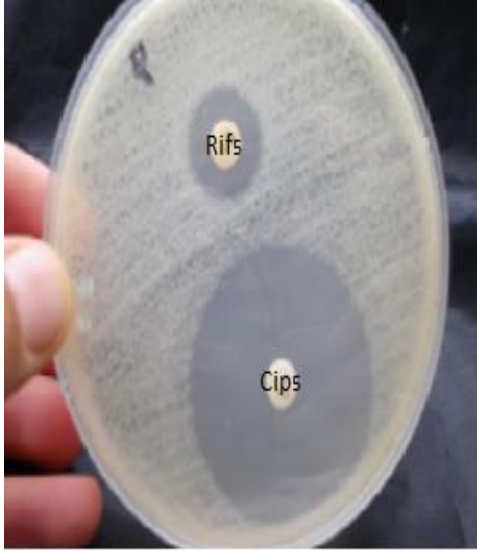

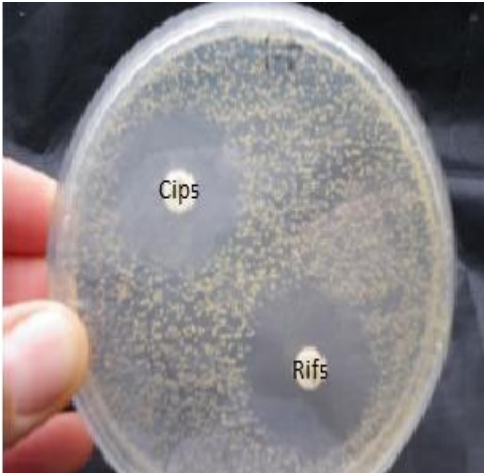
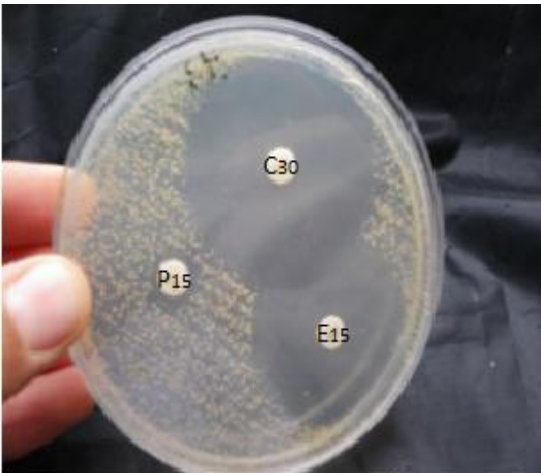
L'activité antibactérienne de 3 extraits étudiés a été évaluée sur une souche bactérienne à Gram positive : *Staphylococcus aureus*, et deux souches à Gram négative : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* à l'aide de la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 2 et les photos présent dans le tableau 3.

Tableau 2 : Diamètres des zones d'inhibition des souches de références testées par certains antibiotiques. Les résultats sont représentés sous forme de : moyenne \pm écart type. L'analyse de la variance a été utilisée pour la comparaison de l'effet des antibiotiques sur chaque souche bactérienne (a, b, c : probabilité ≤ 0.05).

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Rifampicine (5μg)	13.66 \pm 0.57 ^a	16.00 \pm 00.00 ^b	27.66 \pm 0.57 ^c
Ciprofloxacine (5μg)	46.00 \pm 00.00 ^a	40.00 \pm 00.00 ^b	26.66 \pm 0.57 ^c
Pénicilline (10μg)	13.33 \pm 0.57 ^a	21.00 \pm 00.00 ^b	11.00 \pm 00.00 ^c
Erythromycine (15μg)	00.00 ^a	00.00 ^b	36.66 \pm 0.57 ^c
Chloramphénicol (30μg)	30.66 \pm 0.57 ^a	37.33 \pm 0.57 ^b	44.33 \pm 0.57 ^c

Selon les résultats obtenus, nous pouvons conclure qu'il existe des différences significatives ($p < 0.05$) entre l'action des 5 antibiotiques pour chaque souche de référence. Il semblerait qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont sensibles à 4 antibiotiques (rifampicine, ciprofloxacine, pénicilline et le chloramphénicol). Cependant *Staphylococcus aureus* apparaît plus sensible au chloramphénicol et à l'érythromycine. Pour les deux souches de référence à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) la Ciprofloxacine est le plus actif vu les diamètres d'inhibitions de l'ordre 46 et 40mm respectivement, à la différence de *Staphylococcus aureus* (bactérie à Gram positif) où le chloramphénicol qui est le plus actifs avec une zone d'inhibition de l'ordre de 44.33 \pm 0.57mm.

Tableau 3 : Photos prises de l'action antibactérienne de certains antibiotiques sur les souches de référence.

Souches bactériennes	Rif ₅ = Rifampicine - Cip ₅ = Ciprofloxacine - P ₁₀ = Pénicilline - C ₃₀ = Chloramphénicol - E ₁₅ = Erythromycine	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		

2. Etude de l'activité antibactérienne des extraits

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de 3 extraits (méthanolique (S1), brut (S2), et butanolique (S3) isolés de *Lavandula stoechas L.*, par la méthode de diffusion en milieu gélosé, l'activité antibactérienne de nos extraits été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition au tour des disques. Les résultats sont résumés dans le tableau 4, et les photos prises dans les tableaux 5, 6 et 7. Les résultats ci-dessous indiquent que chaque espèce bactérienne agit différemment à l'effet de chaque extrait, cela a été confirmé par l'analyse de la variance (AV1), où des différences significatives ($p \leq 0.05$) ont été remarquées entre les 3 extraits pour chaque souche bactérienne.

Tableau 4 : Diamètres des zones d'inhibition des souches de référence testées par les 3 extraits. Les résultats sont représentés sous forme de : moyenne \pm écart type. L'analyse de la variance (AV1) a été utilisée pour la comparaison des extraits (a, b : probabilité ≤ 0.05).

Souche de références	Diamètres des zones d'inhibition (mm)				
	Extraits	Témoin	10mg	20mg	40mg
<i>Escherichia coli</i>	S1	00.00	00.00	25.33 \pm 0.57 ^a	26.66 \pm 0.57 ^b
	S2	00.00	00.00	00.00 ^a	28.78 \pm 0.65 ^b
	S3	00.00	00.00	00.00 ^a	00.00 ^b
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S1	00.00	00.00	00.00 ^a	26.33 \pm 0.57 ^b
	S2	00.00	00.00	23.10 \pm 0.65 ^a	26.13 \pm 0.0 ^b
	S3	00.00	00.00	00.00 ^a	00.00 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i>	S1	00.00	00.00	00.00	29.16 \pm 0.57 ^b
	S2	00.00	00.00	00.00	23.33 \pm 0.57 ^b
	S3	00.00	00.00	00.00	00.00 ^b

Nous remarquons que l'effet antibactérien de l'extrait S1 et S2 dépend de la quantité de l'extrait, à 10 mg les 2 extraits n'ont aucun effet sur les 3 souches bactériennes. A partir de 20mg l'extrait S1 peu avoir un effet antibactérien sur *Escherichia coli* et l'extrait S2 sur *Pseudomonas aeruginosa*. Cependant à 40mg les 2 extraits peuvent inhiber la croissance des 3 souches bactériennes.

La différence de sensibilité de 3 souches bactériennes peut être attribuée à la nature chimique des extraits testés ainsi que la nature des souches bactériennes. L'extrait méthanolique et brut riche en poly-phénols, à 40 mg l'extrait méthanolique peut présenter des zones d'inhibitions considérables sur les 3 souches où le maximum de 29.16 ± 0.57 mm est noté pour *Staphylococcus aureus*. L'extrait brut à 40 mg peut présenter des zones d'inhibition considérable sur les 3 souches bactérienne où le maximum de 28.78 ± 0.65 mm est noté sur *Escherichia coli*. De ce fait nous pouvons dire que les poly-phénols de l'espèce *Lavandula stoechas*., possèdent un effet antibactérien considérable.

L'extrait butanolique (S3) n'a aucun effet sur les 3 souches de référence : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus*. Cela peut être dû à la nature de l'extrait riche en flavonoïdes glycosidiques ce qui nous laisse à prédire que ces molécules à 40mg, n'ont aucune activité antibactérienne sur les 3 souches de référence.

Tableau 5 : Photos prises de l'action antibactérienne de l'extrait méthanolique (S1).

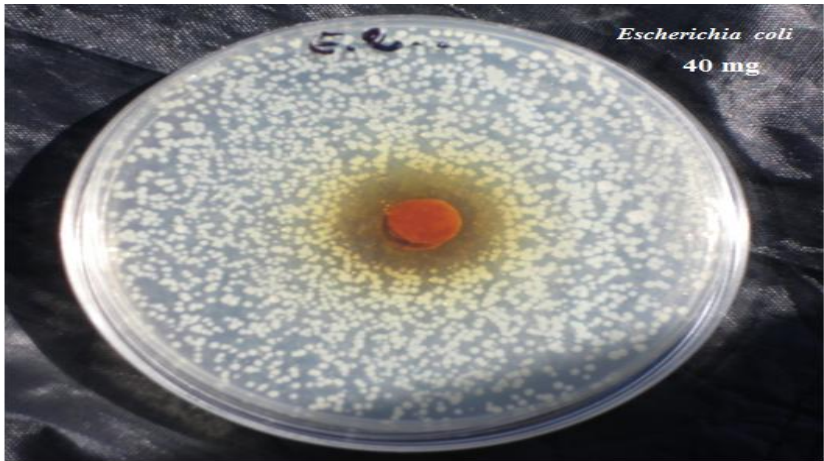

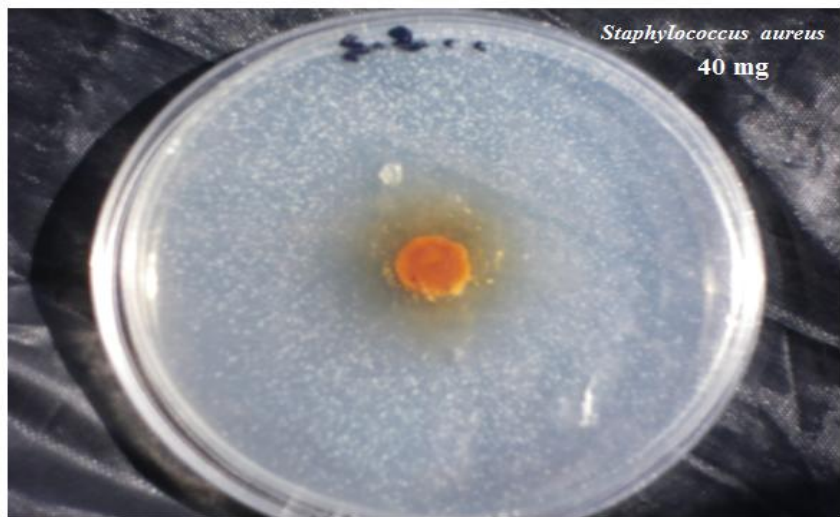
Effet de l'extrait S1 (40 mg) sur les 3 souches de référence	
Extrait méthanolique (S1)	 <p><i>Escherichia coli</i> 40 mg</p>
	 <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> 40 mg</p>
	 <p><i>Staphylococcus aureus</i> 40 mg</p>

Tableau 6: Photos prises de l'action antibactérienne de l'extrait brut (S2).

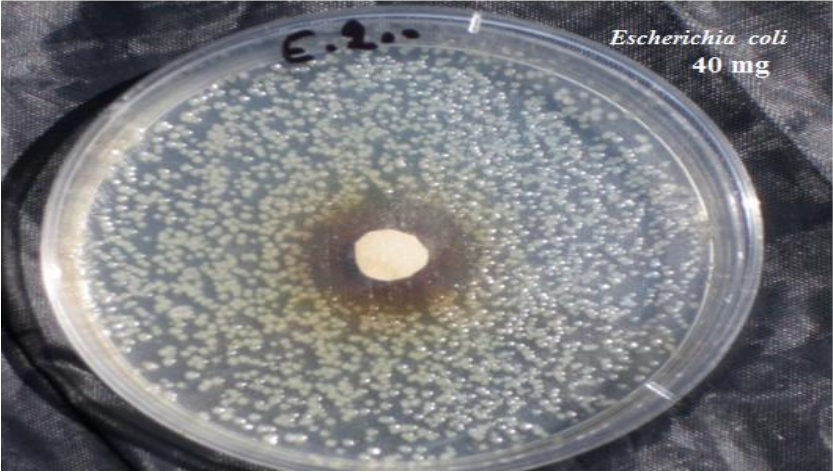
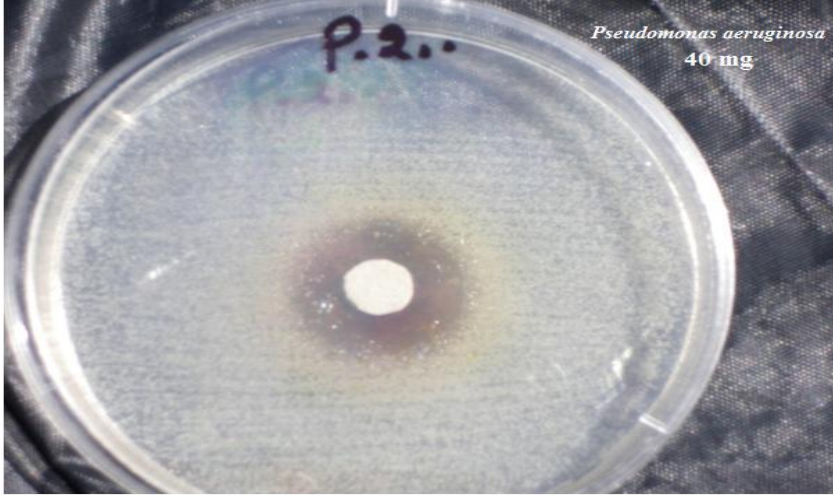
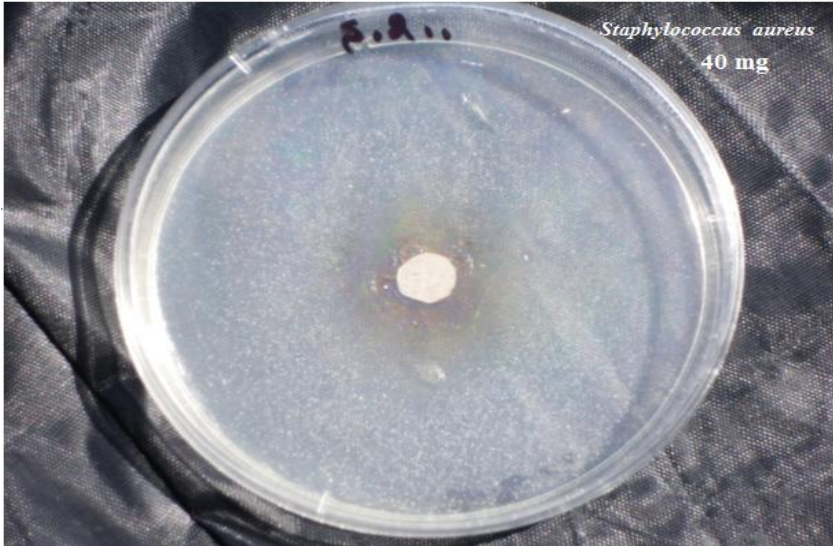
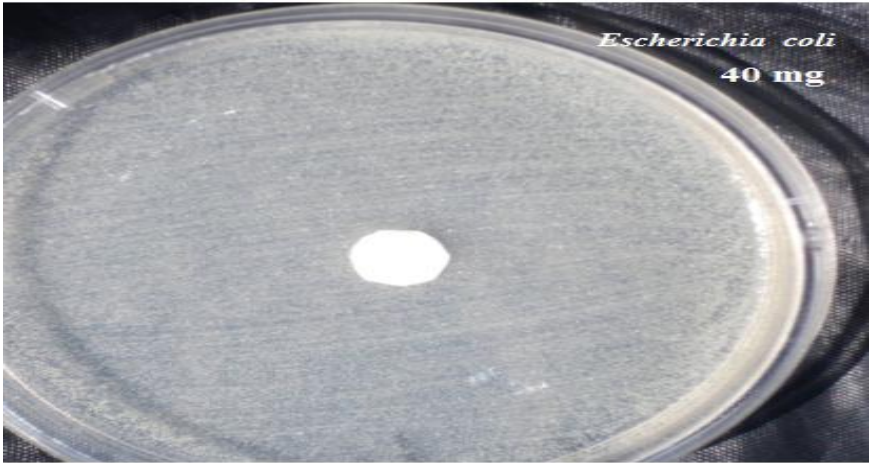
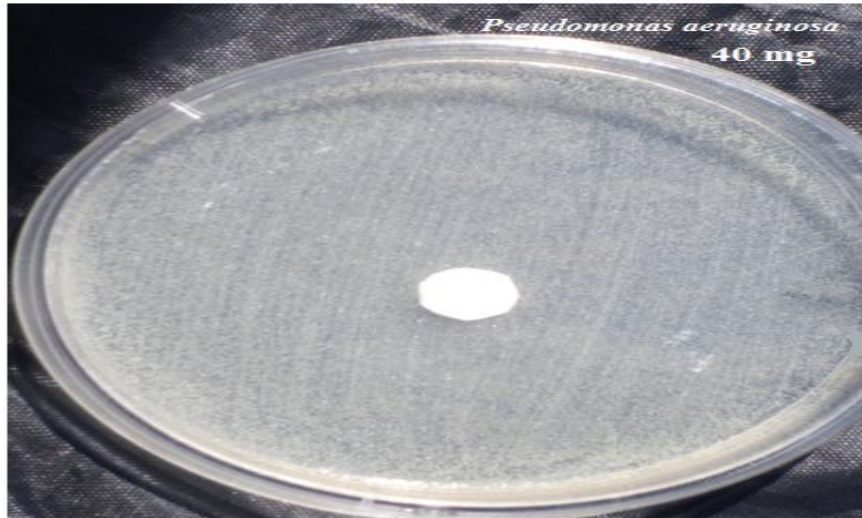
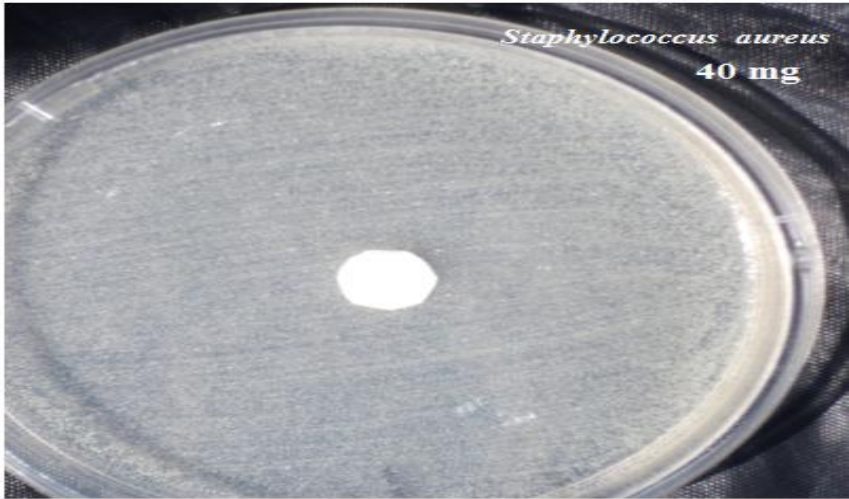
Effet de l'extrait S2 (40 mg) sur les 3 souches de référence	
Extrait brut (S2)	
	
	

Tableau 7: Photos prises de l'action antibactérienne de l'extrait butanolique (S3).

Effet de l'extrait S3 (40 mg) sur les 3 souches de référence	
Extrait butanolique (S3)	 <p><i>Escherichia coli</i> 40 mg</p>
	 <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> 40 mg</p>
	 <p><i>Staphylococcus aureus</i> 40 mg</p>

3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide des extraits testés

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits étudiés vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus* sont mentionnées dans le tableau 8.

Selon ces résultats il existe des différences entre l'effet des extraits étudiées, l'activité minimale inhibitrice de l'extrait S1 à été révélée à une concentration de 20mg/ml pour *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et 40 mg/ml pour *Staphylococcus aureus*. L'extrait S2 à la même concentration peut inhiber la croissance d'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, cependant pour *Staphylococcus aureus* la CMI est supérieure à 100mg/ml.

L'activité bactéricide la plus faible est notée sur *Escherichia coli* pour l'extrait S1, cependant pour *Pseudomonas aeruginosa* c'est l'extrait S2 qui est le plus actif. Pour *Staphylococcus aureus* la CMB de l'extrait S1 est de 100 mg/ml et elle est supérieure à 100 mg/ml de l'extrait S2.

Tableau 8 : Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des 2 extraits. Les résultats sont exprimés sous forme de : moyenne \pm écart type.

	<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2
CMI (mg/ml)	20 \pm 00	40 \pm 00	20 \pm 00	40 \pm 00	40 \pm 00	>100
CMB (mg/ml)	80 \pm 00	100 \pm 00	100 \pm 00	80 \pm 00	100 \pm 00	>100

Conclusion

Ce travail montre la richesse potentielle d'une flore médicinale *Lavandula stoechas L.*, largement réponde en Algérie. Les résultats obtenus indiquent que l'inhibition de croissance bactérienne dépend de 3 facteurs, la bactérie utilisée, la nature de l'extrait testé ainsi que sa quantité.

Les résultats de l'activité antibactérienne effectuée dans ce travail sont prometteuses vu que l'extrait méthanoïque et brut de *Lavandula stoechas L.*, ont révélé une activité antibactérienne sur les 3 souches de référence : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. L'extrait butanolique à 40mg n'a aucun effet sur les 3 souches de bactérienne.

En perspective il serait très intéressant de mener une étude plus approfondie sur *Lavandula stoechas L.*, en étudiant :

- Activité antifongique.
- Phytochimie de la plante.
- Tirer le maximum d'extraits.
- Activité anti-oxydante.
- Utiliser des souches pathogènes.
- Faire des synergies.

Annexe

✓ Composition de la gélose Chapman (g /l)

Extrait de viande.....	01 g
Extrait de levure.....	03 g
Tryptone.....	05g
Peptone bactériologique.....	10g
Chlorure de sodium.....	70g
Mannitol.....	10g
Rouge de phenol.....	0,025g
Agar.....	15g
PH = 7,4	

✓ Composition de la gélose Nutritive en (g /l)

Peptone.....	5g
Extrait de viande.....	01g
Extrait de levure.....	02g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar.....	15g
PH = 7,4	

✓ Composition de la gélose Mueller Hinton en (g /l)

Infusion de viande de bœuf.....	300cm ³
Peptone de caséine	17.5g
Amidon de maïs	1.5g
Agar.....	17 g
PH = 7,4	

✓ Composition du Bouillon Muller Hinton (g /l)

Infusion de viande de bœuf.....	1 Litre
Peptone de caséine.....	59g
Amidon.....	5g
pH=7,4	

Annexe

Références bibliographiques

1. **Allaby M. (1992).** The Concise Oxford Dictionary of Botany, Oxford University Press.
2. **Bauer .A.W., Kirby .W.M.M., Sherris .T.C., and Truck .M. (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. American Journal of Clinical Pathology.45: 493 - 496.
3. **Bahorun.T., Grinier.B., Trotin.F., Brunet.G., Pin.T., Luncky.M.,Vasseur.J., Cazin. M., Cazin.C. and Pinkas.M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung*.46 (11): 1086-1089.
4. **Barry .A.L. and Thornsberry .C. (1985).** Susceptibility test, diffusion test procedure. American Journal of Clinical Pathology. 19: 492 - 500.
5. **Bérubé-Gagnon J. (2006).** Isolation et identification de composés d'antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de l'université de Québec. p66.
6. **Bolou G.E.K., Attioua B., N'Guessan A.C., Coulibaly A., N'Guessan J.D. et Djaman A.J. (2011).** Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. 80 :772 – 790.
7. **Chu. C. J. et Kemper .K. J. (2001).** Lavender (*Lavandula spp.*). Longwood Herbal Task Force. p32.
8. **Fernandez .M. (2003).** de Quelques Plantes dites Médicinales et de leur Fonctions. Editions Aenigma. p63.
9. **Ferrari .J. (2002).** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des *Thymelaeaceae* et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata Steud. ex A. Rich.* Thèse de doctorat de l'université de Lausanne. p228.

10. Ferreres .F., Barberan .F. A. T. et Tomas. F. (1986). Flavonoids From *Lavandula dentata*. *Phytoterapia*. 57 : 199-200.
11. Ferron .A. (1984). Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12^{ème} Edition. Crouan et Roques. Paris. p401.
12. Gören A.C., Topçu.G., Bilsela.G., Bilsela.M., 2002. The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas ssp. Stoechas* .Z. Naturforsch.57c: 797-800.
13. Joffin .J.N. et Leyral. G. (2006). Microbiologie technique : Dictionnaire des techniques. 1^{ère} Edition. Bordeaux. p248.
14. Maganga .A. (2004). Influence of variety and organic cultural practices on yield and essential oil content of Lavender and Rosemary in Interior BC. (STOPA). Ecorational Technologies. Kamloops. BC.p23.
15. Marc .T., Gerard .W., Denis .L. (2001). Classification des anti-inflammatoires : Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4^{ème} Edition. France. p426.
16. Mastelic .J.M. and Kustrak .D. (1997). Essential oil and glycosidically bound volatiles in aromatic plants: I. Lavandin (*Lavandula hybrida reverchon*). *Acta Pharmaceutica*. 47: 133-138.
17. Pilly .E. (1975). Maladies infectieuses. 4^{ème} édition. La Madeleine : Crouan et Roques. France. p584.
18. Pousset .J.L. (1989). Plantes médicinales africaines. Utilisation pratique. Edition ACCT. Paris. p156.
19. Quezel .P. et Santa .S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition. C.N.R.S. Paris. p333.

20. Senez .J. (1968). Microbiologie générale. Edition : Doin. Paris. p592.
21. Upson .T. M., Grayer .R. J., Greenham .J. R., Williams .C. A., Al-Ghamdi .F. and Chen .F.H. (2000). Leaf favonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. Biochemical Systematic and Ecology. 28: 991-1007.
22. Wiesenfeld .E. (1999). Aroma Profiles of Various *Lavandula* species. Scientific Instrument Services. 7-12.
23. Anonyme 1: (en ligne) http://fr.wikipedia.org/wiki/Lavandula_stoechas.
24. Anonyme 2 (en ligne) : [http://www.unige.ch/uni3/Ateliers/ Séminaire Bactériologie/ Poly Cours6.pdf](http://www.unige.ch/uni3/Ateliers/Séminaire_Bactériologie/Poly_Cours6.pdf)

Notre étude est consacrée à évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne ainsi que la concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) de 3 extraits : méthanolique, brut, et butanolique d'une plante aromatique *Lavandula stoechas L.*, poussant à l'état spontané dans la région de Seraïdi sur 3 souches de référence : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Les extraits méthanolique et brut ont un effet considérable à 40 mg sur les 3 souches de référence, à l'inverse de l'extrait butanolique où aucune activité antibactérienne été retrouvé.

L'activité minimale inhibitrice de l'extrait méthanolique a été révélée à une concentration de l'ordre de 20mg/ml pour *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et 40 mg/ml pour *Staphylococcus aureus*. L'extrait brut à 40mg/ml peut inhiber la croissance d'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, cependant pour *Staphylococcus aureus* la CMI est supérieure à 100mg/ml. L'activité bactéricide la plus faible est notée sur *Escherichia coli* pour l'extrait méthanolique, cependant pour *Pseudomonas aeruginosa* c'est l'extrait brut qui est le plus actif. Pour *Staphylococcus aureus* la CMB est de 100 mg/ml pour l'extrait méthanolique et elle est supérieure à 100 mg/ml de l'extrait brut.

Mots clés : *Lavandula stoechas L.*, activité antibactérienne, souches de référence.

The present study is devoted to evaluate the *in vitro* antibacterial activity as well as the minimum inhibitory concentration (CMI) and bactericidal (CMB) of 3 extracts: methanol, crude, and butanol in aromatic plant *Lavandula stoechas L.*, pushing the spontaneous state in Seraïdi, on 3 reference strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The crude and methanolic extract have a considerable effect on the 40 mg of 3 reference strains, in contrast to the butanol extract in which no antibacterial activity was identified on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*.

The minimum inhibitory activity of the methanolic extract was revealed at a concentration of about 20mg/ml to *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*, and 40 mg/ml for *Staphylococcus aureus*. The crude extract 40mg/ml may inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, however for the MIC is greater than 100mg/ml for *Staphylococcus aureus*. The lowest bactericidal activity is noted on *Escherichia coli* for the methanol extract, however *Pseudomonas aeruginosa* is the crude extract is the most active. *Staphylococcus aureus* the CMB is the 100 mg / ml for the extract methanol and above 100 mg / ml of the crude extract.

Key words: *Lavandula stoechas L.*, antibacterial activity, reference strains.

تخصص هذه الدراسة لتقييم نشاط مضادات البكتيريا وكذلك تركيز الحد الأدنى المثبط و مبيد البكتيريا ل 3 مستخلصات: الميثانول ومستخلص الخام و البيوتا نول , من النبتة العطرية الخزامي من قسم *Stoechas* الموجودة تلقائيا في منطقة سرايدي ،وتطبق هذه المستخلصات على 3 سلالات مرجعية : الإشريكية القولونية ، الزائفة الزنجارية و المكورات العنقودية الذهبية،لقد أظهرت 40 ملغ من مستخلص الميثانول ومستخلص الخام أن لهما فعالية عالية كمضادات للبكتيريا ضد 3 سلالات مرجعية , في حين أن مستخلص البيوتا نول لم يظهر أي نشاط مضاد للبكتيريا على الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية و المكورات العنقودية الذهبية.

تتراوح قيمة اقل تركيز مثبط لمستخلص الميثانول 20مغ/ملل ضد الزائفة الزنجارية و الإشريكية القولونية و 40 ملغ / ملل ضد المكورات العنقودية الذهبية . أما بالنسبة لمستخلص الخام فتركيزه الأدنى المثبط فهو 40مغ/ملل الذي يمنع نمو الإشريكية القولونية و الزائفة الزنجارية ،بينما النشاط الحد الأدنى المثبط للمكورات العنقودية الذهبية تكون أكبر من 100مغ/ملل . ويلاحظ أن نشاط مبيد البكتيريا بالنسبة لمستخلص الميثانول ضعيفة جدا على الإشريكية القولونية ، أما لمستخلص الخام فهو أكثر نشاطا على الزائفة الزنجارية. ومستخلص الميثانول فتركيزه الأدنى المثبط على المكورات العنقودية الذهبية هو 100 ملغ / مل وأكبر من 100 ملغ / مل لمستخلص الخام .

كلمات البحث: الخزامة ، النشاط المضاد للبكتيريا ، السلالات المرجعية، تركيز الحد الأدنى المثبط، مبيد البكتيريا.