

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



1.2 / 3

570.250

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire: Biologie moléculaire des procaryotes

**Thème : Activité antibactérienne et antioxydante des huiles
essentielles extraites de *satureja calamintha L.***

Présenté par : - Abadna Mohamed Ali
- Masmoudi Meriem
- Sahli Assad

Devant le jury composé de :

Président : Melle BOUMAZA Awatif .
Examineur 1 : M. DJAKOUN Mohamed .
Examineur 2 : M. MAHDJOURI Djilali.
Encadreur : Melle KHENAKA Karima.

Juin 2012

Remerciements

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination. Les deux années de maîtrise m'ont permis de bien comprendre la signification de cette phrase toute simple.

Ce parcours, en effet, ne s'est pas réalisé sans défis et sans soulever de nombreuses questions pour lesquelles les réponses nécessitent de longues heures de travail.

Nous tenons à la fin de ce travail à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la foi et de nous avoir permis d'en arriver là.

Nos remerciements vont également à nos parents. Nos oncles et tantes de tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour nous permettre de suivre nos études dans les meilleures conditions possibles et n'avoir jamais cessé de nous encourager tout au long de nos années d'étude.

Nous remercions également Melle BOUMAZA Awatif (M.C) à l'université 8 mai 45 Guelma trouve ici l'expression de ma profonde gratitude pour avoir accepté d'évaluer ce travail et de présider le jury.

Nous remercions infiniment notre directeur de mémoire Melle KHENAKA Karima dont la disponibilité, le savoir faire et le soutien ne nous ont jamais fait défaut.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance aux techniciennes du laboratoire de microbiologie. Biochimie et immunologie.

Nous remercions le jury qui nous a fait l'honneur de participer.

Enfin, que tous ceux qui nous ont accordé un soutien, une aide technique ou un conseil, trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

Ali, Assaad et Meriem

Produced by

Dédicaces

Nous Dédions ce modeste travail à :

Nos chers parents, pour leur endurance et leurs sacrifices sans limites

Nos frères et sœurs, en reconnaissance de leur affection toujours constante

Tous nos proches

Nos amis

Nos camarades de promotion

Tous Nos enseignants

Tous ceux qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire

Ali, Assaad et Meriem

Produced with Scantopdf

Liste des abréviations

- ABTS** : acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique
- ATCC** : American Type Culture Collection
- BHA 320** : 3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole
- BHT 321** : 3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène
- CFI** : concentration minimale inhibitrice
- CMB** : concentration minimale bactéricide
- DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
- GN** : Gélose Nutritive
- HE** : huile essentielle
- MDA** : malondialdéhyde
- MH** : Mueller Hinton
- PG** : gallate de propyle
- RO°**: Radical alcooxyle
- ROO°**: Radical hydroperoxyle
- ROS** : espèces réactives de l'oxygène
- TBA** : l'acide thiobarbiturique
- TBA-rs** : thiobarbituric acid ractives spices (les espèces réactives avec le TBA)
- TBHQ** : tertio-butyl-hydroxyquinone
- TCA** : l'acide trichloroacétique
- TEAC** : capacité antioxydante équivalente Trolox

Liste des figures	pages
Figure 1. Structure de la molécule d'isoprène.....	03
Figure 2. Structure de quelques monoterpènes.....	04
Figure 3. Structure de quelques sesquiterpènes.....	04
Figure 4. Structures de quelques composés dérivés du phénylpropane.....	05
Figure 5. Schéma représentatif de la méthode de l'aromatogramme.....	09
Figure 6. Schéma représentatif de la méthode de micro-atmosphère.....	10
Figure 7. La plante de <i>Satureja calamintha</i>	11
Figure 8. Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées en biologie....	13
Figure 9. Formation du complexe chromogène par le TBA et MDA.....	16
Figure 10. Zones d'inhibition obtenues par la méthode de diffusion par disque.....	25
Figure 11. Zones d'inhibition obtenues par la méthode de diffusion par puits.....	26
Figure 12. Zones d'inhibition obtenues par la méthode des micro-atmosphères.....	26
Figure 13. Les concentrations minimales bactéricides des huiles essentielles de <i>Satureja calamintha</i>	27

Produced with Scantopdf

Liste des tableaux

pages

Tableau 1. Les concentrations en huile essentielle pour la technique de TBA.....	22
Tableau 2. Les concentrations en huile essentielle pour la technique du jaune d'œuf.....	23
Tableau 3. Valeurs des diamètres d'inhibition et des pourcentages d'inhibition des huiles essentielles extraites de <i>Satureja calamintha</i> et des antibiotiques vis-à-vis les trois espèces bactériennes.....	24
Tableau 4. Les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des huiles essentielles de <i>Satureja calamintha</i> vis-à-vis des trois souches bactériennes.....	27
Tableau 5. Les pourcentages d'inhibitions de la peroxydation lipidique par les huiles essentielles de <i>Satureja calamintha</i>	29

Produced with Scantopdf

Table des matières

Introduction	1
Revue bibliographique	
1. les huiles essentielles	2
1.1. Définition des huiles essentielles	2
1.2. Localisation des huiles essentielles	2
1.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	3
1.4. Composition chimique des huiles essentielles	3
1.4.1. Les terpènes	3
1.4.2. Les composés aromatiques	5
1.5. Les chémotypes	5
1.6. Facteurs intervenant dans la qualité des huiles essentielles	5
1.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles	6
1.7.1. Phytothérapie	6
1.7.2. Parfumerie et cosmétologie	6
1.7.3. Industrie alimentaire	7
2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles	7
2.1. Mécanisme d'action des huiles essentielles	7
2.2. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne des huiles essentielles	8
2.3. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles	10
3. La plante <i>Satureja calamintha</i> L.	10
3.1. Description	11
3.2. Habitat	11
4. L'activité antioxydante	12
4.2. Définition d'un radical libre	12
4.3. Définition d'un antioxydant	13

4.4. Les différents types d'antioxydants	14
4.4.1. Antioxydants de type I	14
4.4.2. Antioxydants de type II	14
4.4.3. Antioxydants de Type III	14
4.4.4. Antioxydants synthétiques	15
4.5. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante.....	15
Matériel et méthodes	
1. Extraction des huiles essentielles.....	17
2. Les espèces bactériennes étudiées	17
3. Milieux de culture utilisés.....	18
4. Etude de l'activité antibactérienne.....	19
4.1 Diffusion sur milieu gélosé.....	19
4.2 Méthode de diffusion en puits.....	20
4.3 La méthode des micro-atmosphères.....	20
4.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice et la concentration minimale bactéricide	21
5. détermination de l'inhibition de la peroxydation lipidique (méthode de TBA-rs).....	21
5.1. A partir de foie de souris.....	22
5.2. A partir de jaune d'œuf	23
6. Analyse statistique.....	23
Résultats et discussion	
1. Activité antimicrobienne des Huiles essentielles extraites de <i>Satureja calamintha</i>	24
2. Inhibition de la peroxydation lipidique par les huiles essentielles de <i>Satureja calamintha</i>	28
Conclusion	30
References bibliographiques	31
Annexes	
Résumé	

Introduction

Produced with ScanTOPDF

Un grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui ont trouvé des applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture (1). Cependant, l'évaluation des propriétés phyto-thérapeutiques comme antimicrobienne et antioxydante, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans la médecine traditionnelle. Ces plantes peuvent représenter une nouvelle source de composés actifs.

En effet, les activités biologiques de ces plantes résident principalement dans leur richesse en métabolites secondaires, ces derniers représentent une variété très large de composés organiques sans fonction directe dans la croissance et le développement des plantes. Cependant, ils jouent d'autres rôles importants, dans : l'odorat, la protection contre les insectes, les herbivores, ainsi que dans les interactions de la plante avec son environnement (2).

Il existe plusieurs groupes de métabolites secondaires d'origines végétales tels que les saponines, les tanins, les flavonoïdes et les huiles essentielles (HE), chaque groupe de ces derniers regroupe un ensemble de molécules qui possèdent des activités particulières.

Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antimicrobiennes et anti-oxydantes les rendant intéressants comme nouveaux produits, ou comme des alternatives naturels peuvent remplacer les molécules synthétiques doués des mêmes propriétés.

L'une des plantes aromatiques riche en HE est *Satureja calamintha*, c'est une plante rare fait partie de la famille des *Lamiaceae*.

Ce travail vise à étudier les activités biologiques des HE extraites de *satureja calamintha*, d'une part l'activité antibactérienne contre deux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) et une à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et d'une autre part la capacité de ces extraits à inhiber la peroxydation lipidique issus de deux sources (le foie de souris et le jaune d'œuf).

Revue
bibliographique

Produced with ScanTOPDF

1. les huiles essentielles

1.1. Définition des huiles essentielles

Les HE sont des extraits volatils et odorants obtenus à partir de certains végétaux par distillation. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme étant des métabolites secondaires.

Ces extraits ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers, comme elles ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie ; l'aromathérapie (3).

Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles dont environ 300 commercialement importantes et utilisées dans plusieurs domaines (4).

1.2. Localisation des huiles essentielles

Toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir des HE, les fleurs (oranger, rose, lavande,...), les feuilles (eucalyptus, menthe, thym, laurier,...), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, acore), les fruits (fenouil, anis, épicarpes), les graines (coriandre), le bois et les écorces (cannelle, santal, bois de rose). Cependant, la composition chimique de ces extraits peut être varié considérablement dans une même plante selon les organes (feuille, fleur, fruit, bois), dans l'année selon la saison pour une même plante, et aussi selon les conditions de culture pour une même espèce végétale (ensoleillement, humidité, longueur du jour, fertilité du sol) et selon les races chimiques (ou chémotypes) pour une même espèce (5).

Les HE sont produits par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables :

- Les poils sécréteurs épidermiques rencontrés souvent chez les Lamiacées, les Géraniacées et les Verbénacées. Ils produisent les essences dites superficielles.

Les organes sécréteurs sous-cutanés comprenant des cellules et des poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les Myrtacées, les Rutacées, ainsi que des canaux sécréteurs chez les Apiacées.

1.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les HE sont généralement incolores ou jaune pâle, liquide à température ordinaire, volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1, seules trois HE ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle, de girofle et de saffran. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques (6).

1.4. Composition chimique des huiles essentielles

Sur le plan chimique, les HE sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les monoterpènes et les sesquiterpènes (7).

1.4.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette des unités isoprène à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (figure 1). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en monoterpènes formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$), les diterpènes, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$). Les tétraterpènes huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. Les polyterpènes (C_5H_8)_n où n est situé entre 9 et 30 (8).

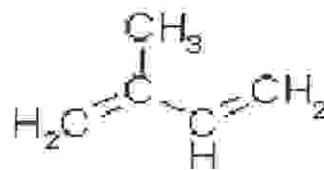


Figure 1. Structure de la molécule d'isoprène (9).

- Les monoterpènes sont volatils entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des HE, parfois plus de 90%. Ils

peuvent être acycliques (myrcène, ocymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, sabinène), à ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique : alcools (géraniol, menthol), aldéhydes (géraniol, citronellal, sinensal), cétones (carvone, menthone, beta- vetinone), et des esters (acétate de géranyle, acétate de linalyle, acétate de cedryle, acétate alpha- terpinyle) (figure 2).

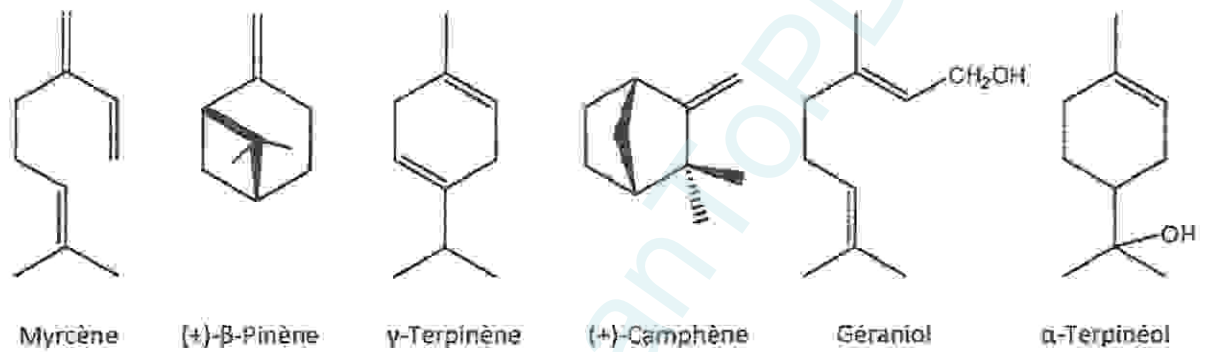


Figure 2. Structure de quelques monoterpènes (10).

- Les sesquiterpènes, il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, Elle contient plus de 3000 molécules (figure 3) (3,8).

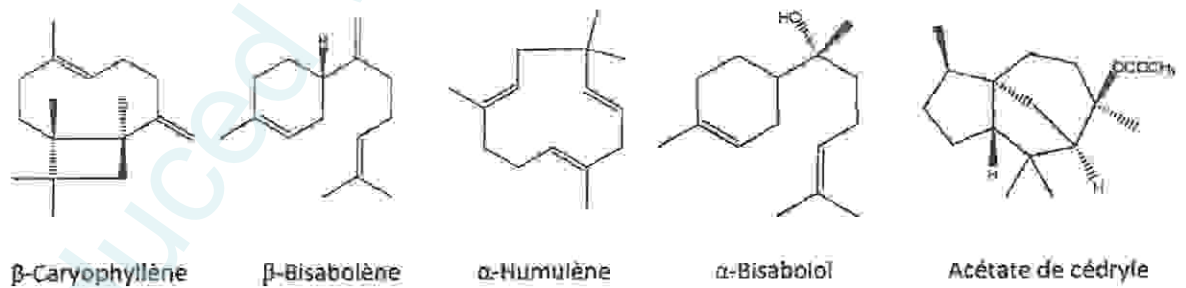


Figure 3. Structure de quelques sesquiterpènes (10).

1.4.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénole, l'anéthole. Ils sont plus fréquents dans les HE d'*Apiaceae* comme l'anis, et le fenouil (11). (Figure 4).

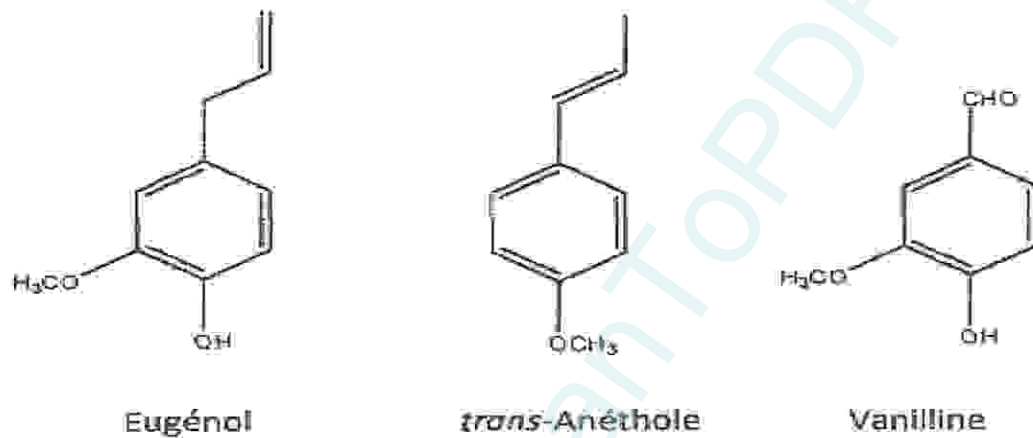


Figure 4. Structures de quelques composés dérivés du phénylpropane (10).

1.5. Les chémotypes

Le chémotype d'une HE est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'HE. C'est l'élément qui permet de distinguer des HE extraites d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les HE pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*. Il est important de noter que les HE à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (12).

1.6. Facteurs intervenant dans la qualité des huiles essentielles

Les facteurs prédominants dans la qualité des HE peuvent avoir deux types d'origines:

- Technologique
- Naturel

De profondes modifications de l'HE peuvent intervenir lors de l'exploitation des végétaux depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle (13). Le mode de récolte, les

conditions de transport, de séchage et de stockage peuvent générer des modifications. Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (pH, température) et de la durée d'extraction (14). Les constituants de l'essence native sont soumis aux effets combinés de l'acidité et de la chaleur, et peuvent subir des modifications chimiques. Les facteurs d'origine naturelle peuvent être spécifiques du bagage génétique de la plante ou liée aux conditions de croissance et de développement de la plante (15).

1.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

1.7.1. Phytothérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de maladies. Le terme aromathérapie vient du chimiste Français René-Maurice Gattefosse, qui a utilisé l'HE de lavande pendant la première guerre mondiale pour soigner des blessures et des infections. Selon lui, la lavande était plus appropriée pour traiter les infections que plusieurs antiseptiques utilisés à cette époque. Cette spécialité préoccupe de plus en plus des médecins et des pharmaciens qui ont publié un nombre important d'ouvrages d'aromathérapie (16). Les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisantes dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries (17, 18,19).

1.7.2. Parfumerie et cosmétologie

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable (20, 21,16).

1.7.3. Industrie alimentaire

En industrie alimentaire, les HE sont utilisées pour avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure. Le carvacrol exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire (22). Il est rajouté pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires (23, 24, 25, 26). Plusieurs travaux ont montré que les HE de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires (27, 28, 23,29).

2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits d'herbes ont des composants chimiques capables d'avoir une activité antimicrobienne (30, 31, 32, 33,34). Les constituants des HE sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons. Les HE les plus étudiées pour leurs propriétés antimicrobiennes appartiennent à la famille des *Lamiaceae* : origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques riches en composés phénoliques volatils comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol, ces composés possèdent une forte activité antibactérienne (35).

L'efficacité d'une HE dépend de sa richesse en composés phytochimiques. Plus l'HE est riche en substances actives, plus son activité est importante. L'activité biologique d'une HE est liée à sa composition chimique et aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques), cependant, les composés minoritaires peuvent jouer aussi un rôle important dans l'activité des HE et semblent agir en synergie avec les composés principaux (4).

2.1. Mécanisme d'action des huiles essentielles

Les mécanismes par lesquels les HE exercent leur activité antibactérienne sont mal connus. Du fait de la complexité de leur composition chimique, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action des HE. Il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire

(36). Certains auteurs ont rapporté que l'effet des HE réside dans leur caractère hydrophobe, qui leur permet de traverser facilement la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire en altérant sa perméabilité et entraînant des pertes anormales d'ions voire même des macromolécules. D'autres suggère que, l'action des HE sur la prolifération microbienne se fait à travers l'altération de la perméabilité membranaire des bactéries en perturbant les systèmes de transport ionique, le transport des électrons et la production d'énergie (37).

Le mode d'action des HE dépend aussi du type de microorganismes. En général, les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des HE, par rapport aux bactéries à Gram négatif. Cela peut être expliqué par la présence de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif, elle représente en effet une barrière capable de diminuer la perméabilité des composés hydrophobes. Cependant, les molécules à faible poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent traverser cette barrière (38).

2.2. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

L'examen des données bibliographiques fait apparaître la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des HE. Le choix de la méthode est conditionné par l'insolubilité des HE dans les milieux aqueux, leur volatilité, et la nécessité de les tester à de faibles concentrations.

- Aromatogramme, L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antihistogramme ou méthode des disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition (figure 5). Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée. Le diamètre de ces zones d'inhibitions est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'HE sur le germe testé. L'activité exercée peut être exprimée soit directement par le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit par le pourcentage d'inhibition (39).

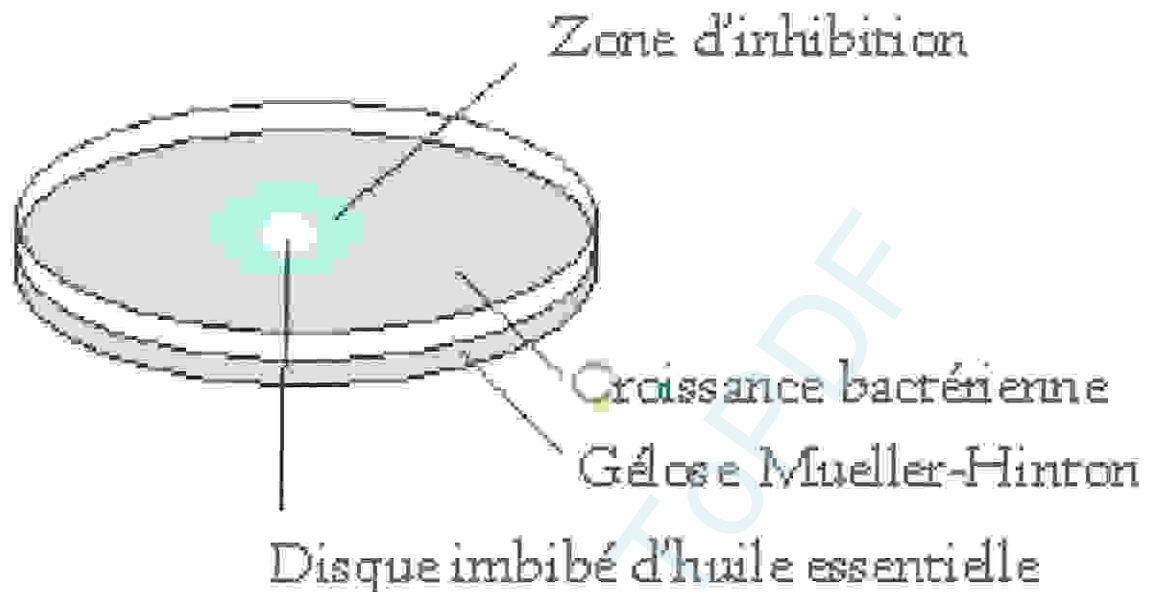


Figure 5. Schéma représentatif de la méthode de l'aromatogramme (40).

- Méthode de diffusion en puits, Méthode proposée par COOPER et WOODMAN en 1946 et, reprise par SHROEDER et MESSING en 1949. Elle assure une diffusion radiale de l'HE à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de l'HE de concentration connue. L'HE diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne (41).
- Méthode de dilution, Les HE à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue à un milieu de culture solide ou liquide. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes. Après incubation, la présence ou l'absence de culture est notée. La lecture peut-être visuelle ou à l'aide d'un spectrophotomètre, le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (42).
- Méthode de micro-atmosphère, Cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les boîtes de Pétri sur milieu de culture approprié. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné d'HE qui est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée après fixation de l'HE sur le disque (figure 6). Celui-ci n'est donc pas en contact avec le milieu gélosé. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte, elle peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés (43).

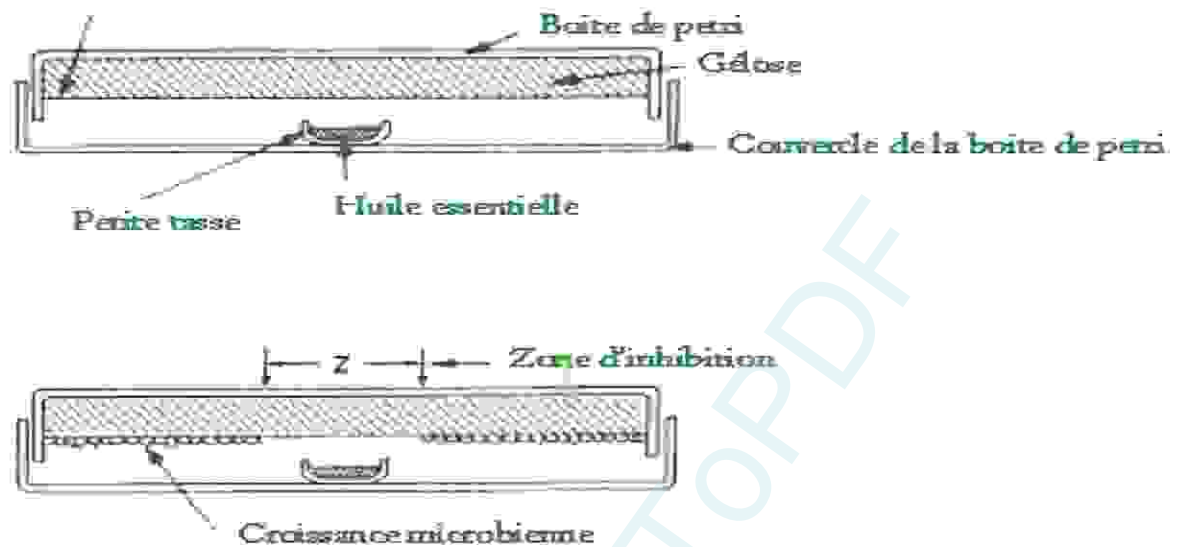


Figure 6. Schéma représentatif de la méthode de micro-atmosphère (40).

2.3. Facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des HE ou leurs composants actifs tels que: la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, type des microorganismes cibles (44).

Plusieurs études ont noté l'effet des matrices alimentaires sur la résistance microbienne aux HE, mais aucune ne semble avoir expliqué le mécanisme, bien que les suggestions aient été proposées quant aux causes possibles. La disponibilité de substances nutritives dans les produits alimentaires permet aux bactéries de réparer les cellules endommagées plus rapidement (45).

3. La plante *Satureja calamintha* L

Elle représente l'une des plantes médicinales connues et utilisées par l'Homme, en effet, Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ces plantes continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne *satureja calamintha* est une plante médicinale riche en métabolites secondaires principalement les HE (46).

3.1. Description

Satureja calamintha est une plante vivace de 40-80 cm (figure 7), velue-grisâtre, à odeur forte, tige très rameuse ; feuilles petites, pubescentes, courtement ovales, à pétiole court, à limbe presque aussi large que long, finement dentelée ; fleurs lilas violacé, assez petites en verticilles nombreux, compacts, à axes courts et rapprochés ; calice long de 4-5 mm, glabrescent, à poils de la gorge saillants, à lèvres rapprochées, à dents presque égales et glabrescentes ; corolle dépassant de 8-12 mm.

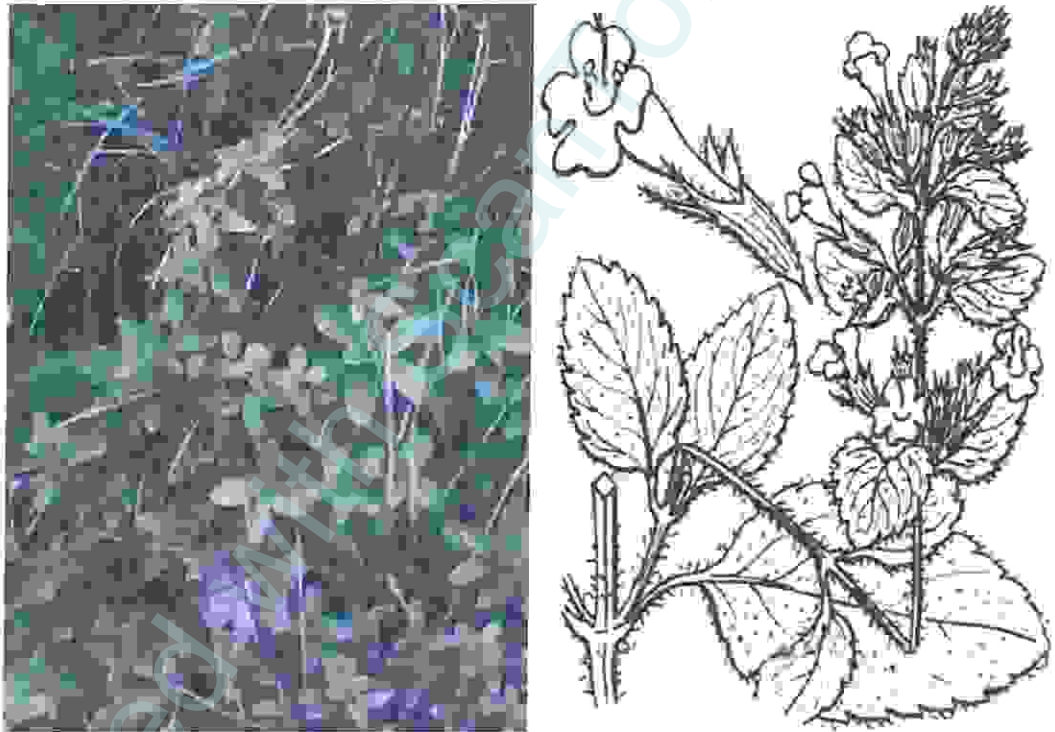


Figure 7. La plante *Satureja calamintha* L [1] .

3.2 Habitat

Satureja calamintha est une plante originaire du nord de l'Afrique (Algérie , Maroc , Tunisie), l'Asie tempérée (Turquie, l'Arménie,...) et aussi l'Europe (Royaume-Uni, l'Autriche) [1]. Elle se trouve généralement dans les lieux secs et pierreux [2].

4. L'activité antioxydante

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (47).

4.2. Définition d'un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (48, 49).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et qui est appelé radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires [Radical hydroperoxyde (ROO^\bullet), Radical alcooxyde (RO^\bullet)], se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (50). L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit [radical superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$), radical hydroxyl (OH^\bullet), monoxyde d'azote (NO^\bullet)], mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante [peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxynitrite (ONOO^-)] (50,51). La figure 8 résume l'origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées en biologie.

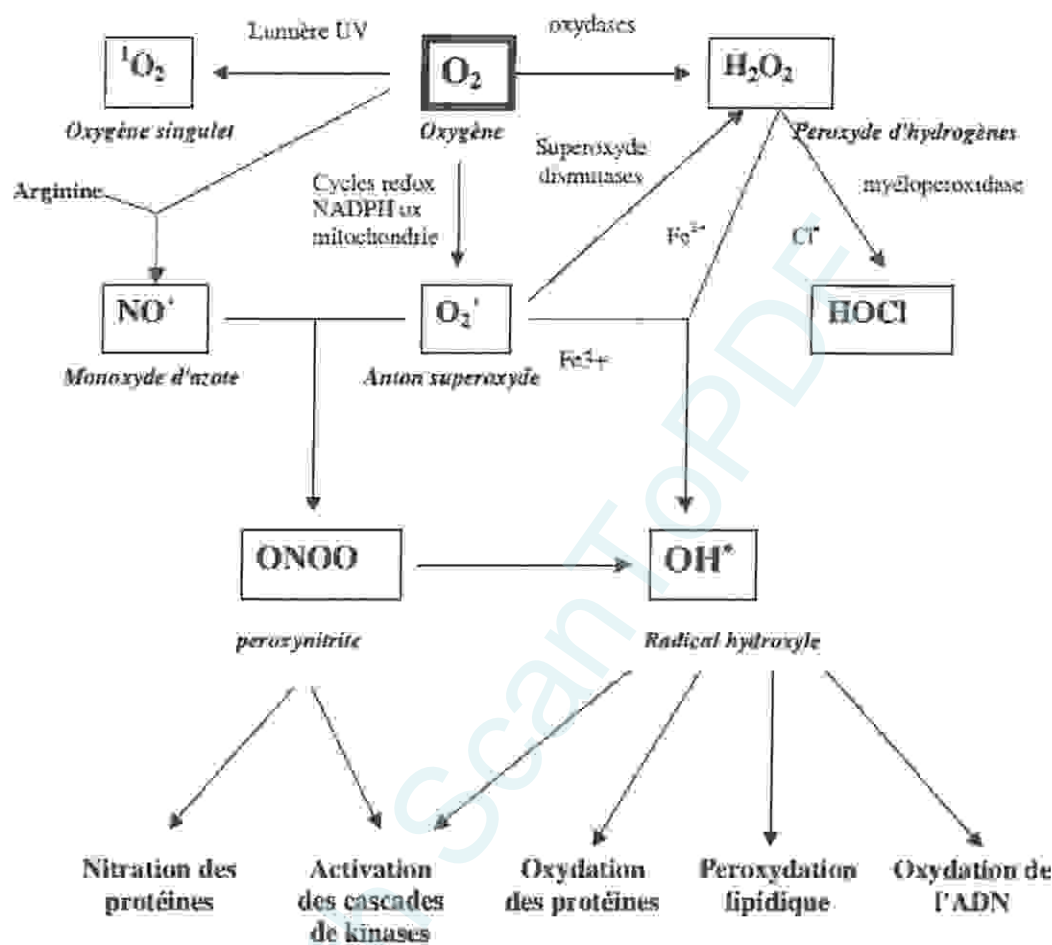


Figure 8. Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées en biologie (51).

4.3. Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (52), se sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendant ainsi inoffensifs (53).

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyles, collectivement connu sous le nom d'oxygène actif (52). Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur. D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que

celui-ci. En même temps, les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (53).

4.4. Les différents types d'antioxydants

4.4.1. Antioxydants de type I

Il s'agit de substances capables d'interrompre la chaîne radicalaire en cédant un radical d'hydrogène à un radical libre lipidique présent.



AH: antioxydant et A° : radical de l'antioxydant.

Les radicaux A° qui se forment sont relativement stables et ne possèdent pas d'énergie suffisante pour arracher un hydrogène des lipides, ils subissent une réaction d'arrêt aboutissant à la formation de produits non radicalaires (54).

4.4.2. Antioxydants de type II

Les antioxydants de cette catégorie sont les composés qui agissent en empêchant ou en diminuant la formation de radicaux libres. Les plus utilisés sont des agents complexant les ions métalliques comme l'acide phosphorique et l'acide citrique.

4.4.3. Antioxydants de Type III

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante, en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière, l'emballage des produits permet ainsi de minimiser l'exposition à l'air et à la lumière, la mise sous vide permet de limiter les réactions de l'oxydation et de prolonger la durée de vie des produits. L'emballage peut également être réalisé sous atmosphère modifiée (N_2 , O_2 , CO_2).

4.4.4. Antioxydants synthétiques

Parmi les antioxydants phénoliques de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments: le BHT 321 (3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène), BHA 320 (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole). Les deux sont solubles dans les lipides et résistent bien à la chaleur. Ils ont une action synergique, mais ils présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et s'évapore rapidement. Le TBHQ (tertiobutyl-hydroxyquinone) est moins soluble dans les graisses et le PG (gallate de propyle) à l'avantage d'être relativement soluble dans l'eau (55).

4.5. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant ne peut être mesuré qu'indirectement à partir de ses effets. La plupart des méthodes de mesure de l'activité antioxydante sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux très variés. Ce sont principalement des méthodes dites "d'inhibition" dans lesquelles une espèce chimique capable de générer des radicaux libres est utilisée avec une substance capable de détecter ces espèces. L'échantillon dont on souhaite mesurer le pouvoir antioxydant est capable d'inhiber la génération des radicaux.

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi, différents tests de mesure de pouvoir antioxydant sont effectués.

Les antioxydants peuvent réduire les radicaux primaires par deux mécanismes : par transfert d'électron ou par transfert d'atome d'hydrogène. Les méthodes 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) et l'acide 2,2'-azimobis-(3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique (ABTS) ou capacité antioxydante équivalente Trolox (TEAC) jouent sur le transfert d'un atome d'hydrogène.

Le DPPH est un radical commercial directement utilisable, alors que l'ABTS doit être généré par une réaction enzymatique ou chimique. Une autre différence importante concerne la solubilité de ces deux radicaux : ABTS est soluble en milieux organique et aqueux alors que DPPH est soluble uniquement en milieu organique et plus particulièrement alcoolique. Le test à l'ABTS permet donc l'étude de tous les agents hydrophiles et lipophiles. Le test au DPPH est plus restrictif. Les méthodes DPPH et ABTS sont couramment utilisées pour analyser les extraits des plantes et des fruits. Ce sont des méthodes éprouvées qui une fois standardisées permettent de comparer de résultats.

Une autre méthode l'acide thiobarbiturique (TBA) communément utilisée aussi pour évaluer l'activité antioxydante est le test des espèces réactives avec le TBA (TBA-rs), ce test permet de mesurer la quantité de malondialdéhyde (MDA) qui se forme comme produit lors de la peroxydation lipidique, le MDA réagit avec le TBA pour donner un complexe coloré (figure 9), l'intensité de la couleur produite est mesurée ainsi par spectrophotométrie, où le résultat final de l'inhibition de la peroxydation lipidique peut être présenté en équivalent MDA ou bien par pourcentage d'inhibition (56).

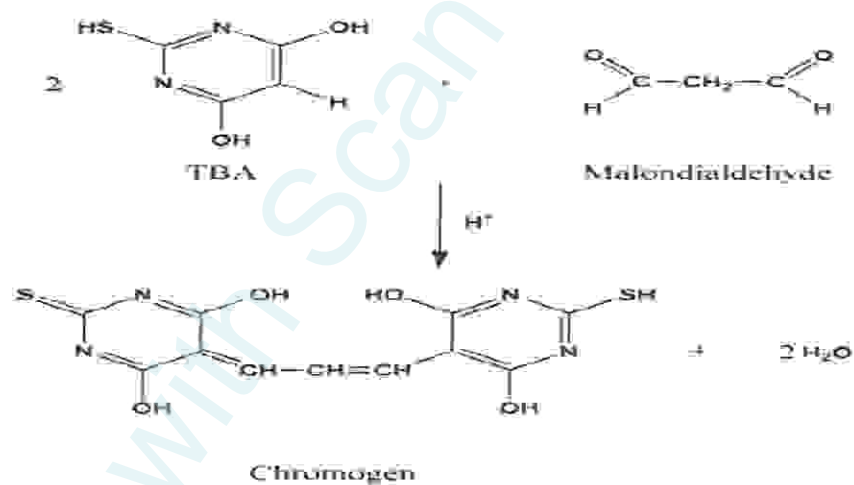


Figure 9. Formation du complexe chromogène par le TBA et MDA (56).

*Matériel et
méthodes*

Produced with ScanTOPDF

1. Extraction des huiles essentielles

Les HE utilisées dans cette étude sont fournies par le laboratoire de Génie Microbiologique et Application de Constantine. Les HE de *satureja calamintha* sont obtenues par hydrodistillation. L'extraction est faite par un montage d'hydrodistillation, elle est réalisée par ébullition pendant 3 heures d'un mélange de 100 g de matériel végétal et 1400 ml d'eau distillée, les vapeurs chargées d'HE ; en traversant le réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et les HE se séparent ainsi par différence de densité. Les HE obtenues sont conservées à une température voisine de 4°C dans des tubes en verre ombré, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température qui sont des principaux agents de l'altération des HE.

2. Les espèces bactériennes étudiées

Pour une bonne évaluation à cette étude, le choix des espèces bactériennes a été porté sur des espèces référenciées, deux souches à Gram négatif : *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et *Escherichia coli* ATCC 25922, une autre à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est l'espèce la plus fréquemment isolée chez l'Homme. Ce germe est à l'origine de certaines infections des voies respiratoires comme celles des poumons et plus spécifiquement des bronches ainsi que des angines, plus spécifiquement chez les sujets fragilisés comme les diabétiques, les personnes âgées ou encore les alcooliques. Récemment, cette bactérie s'est avérée résistante à différents antibiotiques comme les céphalosporines de troisième génération et les aminosides.

- *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie qui fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*, germe que l'on trouve le plus communément dans les intestins de l'homme et des animaux à sang chaud. Le plus souvent les souches d'*Escherichia coli* qui colonisent l'appareil gastro-intestinal sont des commensaux inoffensifs. Toutefois à l'intérieur de ces espèces on trouve des souches pathogènes telles que :

- *Escherichia coli* entéropathogène (ECEP).
- *Escherichia coli* entérotoxigène (ECET).
- *Escherichia coli* entéroinvasif (ECEI).
- *Escherichia coli* entérohémorragique (ECEH).

- *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement. Certaines souches agissent par libération d'une ou de plusieurs toxines (intoxication alimentaire, syndrome de choc toxique, etc.).

La fréquence et la gravité des infections à staphylocoques sont liées à trois principaux facteurs :

1. le caractère ubiquitaire du germe.
2. l'abaissement des défenses locales et générales des malades soumis à des soins intensifs, des interventions chirurgicales graves, etc.,
3. et la fréquente résistance aux antibiotiques du staphylocoque, notamment du staphylocoque hospitalier.

3. Milieux de culture utilisés

Suivant les techniques employées et les souches étudiées, les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- Gélose nutritive (GN) : un milieu d'isolement non-sélectif l'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne (repiquage) ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée (annexe 01).

- La gélose de Mueller Hinton (MH) est reconnue par tous les experts comme étant le milieu de référence pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques et toutes autres substances qui possèdent une activité antimicrobienne comme les huiles essentielles (annexe 01).
- Gélose Chapman : La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries halophiles, C'est un milieu semi-synthétique. Il est utilisé pour l'isolement des *Staphylococcus* (annexe 01).
- Le bouillon nutritif constitue un milieu d'utilisation générale pour un grand nombre de microorganismes ne présentant pas d'exigences particulières (annexe 01).

4. Etude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des HE de *satureja calamintha* est étudiée par plusieurs techniques :

4.1 Diffusion sur milieu gélosé

La méthode de diffusion sur milieu gélosé est réalisée sur milieu MH, la gélose MH stérile et fondu est versé aseptiquement dans des boîtes de Pétri avec une épaisseur de 4 mm dans chaque boîte. Après solidification et à l'aide d'un écouvillon stérile, la surface du milieu de culture estensemencée par une des suspensions de souches bactériennes, ces dernières sont préparées dans l'eau physiologique stérile et qui porte une charge bactérienne de l'ordre de 0,5 Mc Farland. Les suspensions bactériennes sont préparées à partir de culture fraîche de 18 heures.

A l'aide d'une pince stérile, des disques de papier filtre de 6 mm (papier Whatman N.1) sont déposés sur la surface de la géloseensemencée, ensuite une quantité de 10 µl d'HE est déposé sur chaque disque. Les boîtes ainsi sont stockées dans un réfrigérateur à 4°C pendant 2 heures, en suite elles sont incubées 24 heures à 37°C. Après incubation, les zones d'inhibitions formées sont mesurées

Trois répétitions sont réalisées pour chaque test. L'effet des HE est comparé à un control négatif (eau distillée stérile) et à un control positif (gentamicine (1.5 mg/kg) et rifampicine (10 mg/kg)).

L'évaluation de l'inhibition est réalisée par mesure du diamètre d'inhibition est le calcul du pourcentage d'inhibition.

$$\% \text{ Inhibition} = (D_{\text{test}} / D_{\text{boite de pétri}}) \times 100$$

D_{test} : diamètre de la zone d'inhibition.

D_{control} : diamètre de la boite de pétri.

4.2 Méthode de diffusion en puits

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des HE à l'intérieur d'une boite de Pétri dans un milieu nutritif solide, cette technique a été appliquée par plusieurs auteurs.

Sur une gélose MH ensemencé par écouvillonnage avec une suspension de 0,5 Mc Farland, Des puits de 6 mm sont réalisés à la surface à l'aide d'une pipette pasteur stérile.

Une quantité de 10 μ l d'HE est déposée aseptiquement dans ces puits. Les boites de Pétri sont transférées d'abord au réfrigérateur pendant 2 heures, ensuite à une étuve réglé à 37°C pendant 24 heures.

4.3 La méthode des micro-atmosphères

Le but de ce test est d'essayer d'exploiter les propriétés antibactériennes de la phase volatiles des HE. Cette méthode est techniquement semblable à celle de test de diffusion sur milieu gélosé et de diffusion en puits, sauf que l'HE ne sera pas en contact direct avec le milieu gélosé.

Des disques stérile du papier filtre (papier Whatman N. 1) de 2,5 cm de diamètre sont déposés à la surface du couvercle des boites de Pétri, ensuite, les disques sont imbibés de 50 μ l d'HE.

4.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice et la concentration minimale bactéricide

- Concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des HE a été déterminée par la technique de dilution. Les dilutions des HE ont été préparées dans le bouillon nutritif afin d'obtenir les concentrations suivantes : 40, 8, 1.6, 0.32, 0.064, 0.0128 et 0 µl/ml.

Le contenu des tubes doit bien agité avant de passer d'une dilution à une autre. Le volume final dans chaque tube est de 4 ml. Une suspension bactérienne équivalente à 0.5 Mc Farland est préparée pour chaque souche étudiées; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Chaque tube est inoculé avec 400 µl de l'une des suspensions bactériennes. Trois tubes témoins sont préparés exempts d'HE.

Après 24 heures d'incubation, les tubes sont analysés à l'œil nu, la CMI est la concentration pour laquelle aucune croissance visible est observée.

- Concentration minimale bactéricide

À partir des dilutions qui ont inhibées la croissance bactérienne, des ensemencements sont réalisés sur un milieu gélosé. Après l'incubation à 37°C pendant 24 heures, la concentration minimale bactéricide (CMB) est la concentration en HE pour laquelle il n'y a aucune croissance sur le milieu solide.

5.détermination de l'inhibition de la peroxydation lipidique (méthode de TBA-rs)

Cette méthode est la plus utilisée pour le dosage des composés secondaires comme le MDA formés lors de la peroxydation des lipides. Le TBA réagit avec le MDA pour former un complexe de couleur rose possédant un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 532 nm. Des aldéhydes tels que les 4-hydroxy-alcénal, les 2,4-alcadiéanal, les 2-alcéanal réagissent également avec le TBA et peuvent former un complexe coloré. C'est la raison pour laquelle le terme de (TBA-rs) est employé.

Ce travail a été réalisé par deux méthodes sur deux échantillons différents

5.1. A partir de foie de souris

Dans cette étude, le foie de trois souris est utilisé comme une source de lipides. Après décapitation des souris, le foie est récupéré afin de produire un mélange de 10% dans un tampon phosphate salin de pH égale à 7,4. 1 ml du mélange est additionné avec une quantité précise d'HE et/ou de méthanol (57).

Tableau 1. Les concentrations en huile essentielle pour la technique de TBA.

[HE] en $\mu\text{l/ml}$	Mélange de foie (ml)	HE (μl)	Méthanol (μl)
0	1	0	200
20,83	1	25	175
41,66	1	50	150
83,33	1	100	100

Après homogénéisation, 100 μl d'une solution de FeSO_4 15 mM est ajouté à 1 ml du mélange final, les tubes sont incubés pendant 30 min à 37°C au bain marie. Après incubation, 100 μl du contenu des tubes est additionnée avec 1,5 ml de l'acide trichloracétique (TCA). Les tubes sont laissés 10 min à température ambiante, ensuite, le contenu est centrifugé à 1000 g pendant 10 min.

Le surnageant récupéré est mélangé avec 1,5 ml de TBA, le mélange ainsi obtenu est chauffé à 100°C pendant 30 minutes. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 532 nm.

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition.

$$I\% = [(A_0 - A_e) / A_0] * 100$$

A_0 = absorbance du blanc

A_e = absorbance d'échantillon

5.2. A partir de jaune d'œuf

Le jaune d'œuf est utilisé comme un substrat riche en lipides, il est utilisé pour préparer une solution de 10% dans le KCl (1,15%). Dans des tubes à essais, 500 μ l de la solution de jaune d'œuf est additionné de 100 μ l d'HE et/ou méthanol, ensuite, le volume est complété jusqu'au 1 ml avec de l'eau distillée.

Tableau 2. Les concentrations en huile essentielle pour la technique du jaune d'œuf.

[HE] en μ l/ml	Mélange du jaune d'œuf (μ l)	HE (μ l)	Méthanol (μ l)	Eau distillée (μ l)
0	500	0	100	400
20,83	500	50	50	400
41,66	500	100	0	400

Après homogénéisation, 1,5 ml d'acide acétique à 20% et 1,5 ml d'une solution à 0,8% de TBA (préparé dans une solution de 1,1% de sodium dodecyl sulphate). Le mélange obtenu est chauffé à 95°C pendant 1 heure. Après refroidissement, 5 ml de butanol sont ajoutés à chaque tube, ensuite, une centrifugation est réalisée à 3000 rpm pendant 10 min. l'absorbance du surnageant récupéré est mesuré à l'aide de spectrophotomètre à 532 nm (58).

Comme précédemment les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition.

6. Analyse statistique

Les données sont traitées par le logiciel statistique STATITCF version 4. Elles sont soumises à une analyse de la variance ANOVA à un seul facteur.

Résultats et discussion

Produced with ScanTOPDF

1. Activité antimicrobienne des Huiles essentielles extraites de *Satureja calamintha*

L'évaluation de l'activité antibactérienne des HE de *satureja calamintha* a été réalisée sur trois espèces bactériennes, l'une à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et deux à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603). Les diamètres et les pourcentages d'inhibition de ces extraits vis-à-vis les trois espèces bactériennes sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3. Valeurs des diamètres d'inhibition et des pourcentages d'inhibition des huiles essentielles extraites de *Satureja calamintha* et des antibiotiques vis-à-vis les trois espèces bactériennes.

Souches	Disques						Puits		Micro-atmosphère	
	HE		Gentamicine		Rifampicine		HE		HE	
	D (mm)	I %*	D (mm)	I %*	D (mm)	I %*	D (mm)	I %*	D (mm)	I %
<i>Staphylococcus aureus</i>	10,00	11,11 ^c	12,00	13,33 ^c	14,00	15,55 ^b	9,33	10,37 ^c	np	np
<i>Escherichia coli</i>	12,00	13,33 ^b	25,00	27,77 ^a	11,00	12,22 ^c	10,33	11,47 ^b	19,33	21,48
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23,33	25,92 ^a	23,00	25,55 ^b		36,66 ^a	13,66	15,18 ^a	It	100
P	-	0,0000	-	0,0001	-	0,0001	-	0,0023	-	-

* : a, b, c. Moyennes dans une même colonne affectées d'exposants différents sont statistiquement distincts (P < 5%).

It : inhibition totale.

np : zone d'inhibition non précise.

Par la méthode de diffusion par disque, une inhibition de la croissance bactérienne a été observée avec les trois souches bactériennes (figure 10), les pourcentages d'inhibitions varient entre 11,11 et 25,92 %, la plus grande valeur pour *Klebsiella pneumoniae* et le pourcentage le plus faible pour *Staphylococcus aureus*. Comparativement à l'effet des

antibiotiques, la gentamicine et la rifampicine ont des pourcentages d'inhibition plus importants que ceux des HE sur *Staphylococcus aureus*, alors que, pour *Escherichia coli* l'impact de l'HE est plus important que celui de la rifampicine. L'inhibition de *Klebsiella pneumoniae* provoquée par l'HE est semblable avec celle provoquée par la gentamicine.



Klebsiella pneumoniae

Staphylococcus aureus

Escherichia coli

Figure 10. Zones d'inhibition obtenues par la méthode de diffusion par disque.

Une échelle d'estimation de l'activité antibactérienne est donnée par Mutai et al. (59). Selon cette échelle, les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne sont classés en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm
- Fortement inhibitrice : $21 \text{ mm} < D < 29$ mm
- Modérément inhibitrice : $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm
- Légèrement inhibitrice : $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$ mm
- Non inhibitrice : $D \leq 10$ mm

Selon cette échelle, l'HE de *satureja calamintha* a une activité inhibitrice seulement contre les deux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*), alors que *Staphylococcus aureus* est considérée comme non sensible à l'action de ces extraits.

L'inhibition de la croissance bactérienne a été observée aussi dans les deux autres méthodes. Dans la diffusion en puits (figure 11), comme précédemment, l'inhibition la plus

importante est observée contre *Klebsiella pneumoniae* (15,18%) et la plus faible contre *Staphylococcus aureus* (10,30%), pour *Escherichia coli* l'inhibition est de l'ordre de 11,47%, et les diamètres d'inhibition sont entre 9,33 et 13,66 mm.



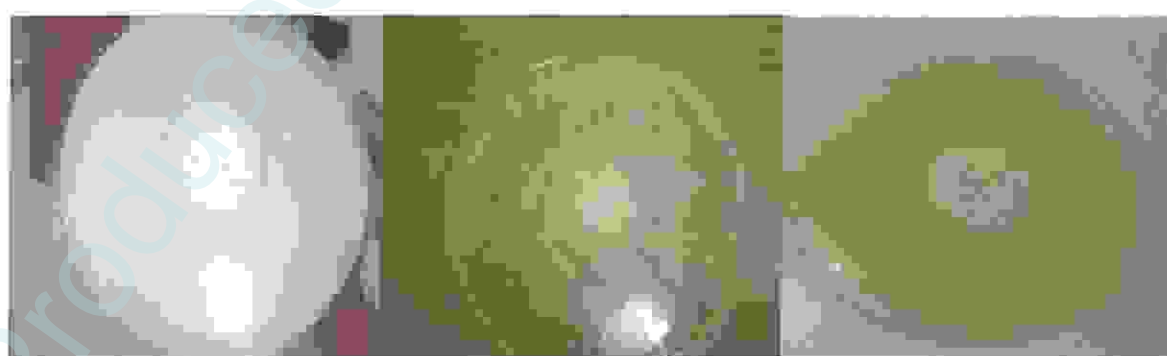
Klebsiella pneumoniae

Escherichia coli

Staphylococcus aureus

Figure 11. Zones d'inhibition obtenues par la méthode de diffusion par puits.

Dans la méthode des micro-atmosphères, aucune croissance de *Klebsiella pneumoniae* n'a été observée avec l'HE de *satureja calamintha*, une zone d'inhibition de 19,33 mm (21,48%) est enregistrée pour *Escherichia coli*. une diminution de croissance est observée avec *Staphylococcus aureus*, cependant, cette inhibition est non mesurable (figure 12).



Escherichia coli

Staphylococcus aureus

Klebsiella pneumoniae

Figure 12. Zones d'inhibition obtenues par la méthode des micro-atmosphères.

Les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des HE de *satureja calamintha* sont citées dans le tableau 4.

Tableau 4. Les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des huiles essentielles *satureja calamintha* vis-à-vis des trois souches bactériennes.

Souches		CMI ($\mu\text{l/ml}$)*	CMB ($\mu\text{l/ml}$)*
Bactérie à Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,32 ^b	40 ^a
Bactéries à Gram-	<i>Escherichia coli</i>	8 ^a	40 ^a
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8 ^a	8 ^b
P		0,0231	0,0432

* . a, b, Moyennes dans une même colonne affectées d'exposants différents sont statistiquement distincts ($P < 5\%$).

Une inhibition de la croissance à une concentration de 8 $\mu\text{l/ml}$ est enregistrée pour *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, alors que pour *Staphylococcus aureus*, la CMI été plus faible et de l'ordre de 0,32 $\mu\text{l/ml}$. Les subcultures réalisées suite à l'obtention des CMI, ont permis d'observer les CMB sur les trois espèces bactériennes étudiées.

Une absence totale de croissance d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* est notée à 40 $\mu\text{l/ml}$, cependant, la CMB des HE vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae* est égale à la CMI (8 $\mu\text{l/ml}$) (figure 13).



Staphylococcus aureus

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Figure 13. Les concentrations minimales bactéricides des huiles essentielles de *Satureja calamintha*.

L'action inhibitrice et bactéricide des HE est due à leurs richesse en molécules actives, en effet, Les HE sont des métabolites secondaires produites naturellement par les plantes, elles possèdent une activité antimicrobienne très intense. Les HE de *Satureja calamintha* contiennent majoritairement le *p*-cymène, le γ -terpinène et le thymol (60).

Grâce à la composition complexe de ces extraits et la présence de plusieurs composés minoritaires, l'activité antibactérienne des HE est liée à plusieurs mécanismes à la fois, cependant la plupart sont attribués à l'interaction des composants des HE avec la membrane cellulaire. Les HE sont constituées de molécules lipophiles capables de pénétrer la double couche phospholipidique, leur accumulation entre les phospholipides entraîne alors un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire, perturbant ainsi le transport membranaires des substances nutritives. Les HE peuvent aussi perturber le gradient ionique de part et d'autre de la membrane cytoplasmique ce qui diminue la stabilité membranaire et perturbe aussi le transport membranaire (61,62).

Les résultats obtenus montrent une différence d'effet de l'HE contre les trois espèces bactériennes, selon la littérature, les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des HE, par rapport aux bactéries à Gram négatif. Cela peut être expliqué par la présence de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif, elle représente en effet une barrière capable de diminuer la perméabilité des composés hydrophobes. Cependant, les molécules à faible poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent traverser cette barrière (63).

2. Inhibition de la peroxydation lipidique par les huiles essentielles de *Satureja calamintha*

Les pourcentages d'inhibition de la peroxydation lipidique par les HE extraites de *Satureja calamintha* sont présentés dans le tableau 5.

Selon ces résultats, l'extrait étudié est fortement inhibé la peroxydation lipidique. Avec la première technique où la source des lipides été le foie des souris, l'inhibition été plus importante avec les concentrations de 41,66 et 83,33 $\mu\text{l/ml}$. Alors que dans la deuxième technique où la source de lipides été le jaune d'œuf, la concentration de 50 $\mu\text{l/ml}$ a un effet plus important sur l'inhibition de la peroxydation lipidique que celle de la dose 100 $\mu\text{l/ml}$.

Tableau 5. Les pourcentages d'inhibitions de la peroxydation lipidique par les huiles essentielles de *Satureja calamintha*.

	Foie de souris**				Jaune d'œuf**		
	[HE] µl/ml			P	[HE] µl/ml		P
	20,83	41,66	83,33		50	100	
I%	23,80 ^b	25,73 ^a	26,27 ^a	0,0052	81,17 ^a	79,79 ^b	0,0496

* : a, b, Moyennes dans une même colonne affectées d'exposants différents sont statistiquement distincts ($P < 5\%$).

Plusieurs autres études ont montré le pouvoir antioxydant des HE et des autres métabolites secondaires végétaux comme les flavonoïdes. Ces molécules actives peuvent retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques comme les lipides, ils peuvent réagir avec les radicaux libres et les rendant ainsi inoffensifs.

Plusieurs auteurs ont rapporté le pouvoir antioxydant des HE extraites des espèces appartiennent au genre *Satureja* comme : *Satureja montana* L, *Satureja thymbra*, *Satureja cuneifolia* et *Satureja ciliatica* (64, 65, 66).

Conclusion

Produced with ScanTOPDF

Les HE sont des métabolites secondaires produits naturellement par de nombreuses plantes aromatiques.

L'objectif assigné à ce travail était l'étude des activités biologiques des HE extraites de *Satureja calamintha*, d'une part l'activité antibactérienne contre trois espèces (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et d'une autre part la capacité de ces extraits à inhiber la peroxydation lipidique issus de deux sources (le foie de souris et le jaune d'œuf).

Dans une première approche, notre étude a permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'HE de *satureja calamintha*, une activité antibactérienne importante a été enregistrée contre les trois espèces bactériennes par l'application de techniques de diffusion par disque et par puits, cependant, une différence significative de l'effet de l'extrait est observée entre les trois espèces où *Klebsiella pneumoniae* révèle plus sensible à l'action de l'HE, de même, avec la technique des micro-atmosphères, une inhibition de 100% a été observée pour cette espèce, alors que l'inhibition pour *Staphylococcus aureus* été immesurable, et une inhibition de 21,48% est notée pour *Escherichia coli*.

De plus de l'action bactériostatique observée, l'extrait est aussi une action bactéricide sur les espèces bactériennes étudiées, cette action a été notée à 40 µl/ml contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* et à partir de 8µl/ml contre *Klebsiella pneumoniae*.

Dans une deuxième approche, l'HE étudié est fortement inhibé la peroxydation lipidique avec les deux techniques étudiées. Une réduction maximale de 26,27% été l'effet d'une dose de 83,33 µl/ml d'HE à partir de l'échantillon du foie de souris, alors que la peroxydation lipidique issue du jaune d'œuf a été inhibée avec 81,17% avec une concentration en HE égale à 50 µl/ml.

Dans le but de progresser dans ce domaine, il est indispensable de définir la composition chimique des HE pour mieux comprendre leur mécanisme d'action sur les trois espèces bactériennes étudiées et sur l'inhibition de la peroxydation lipidique. Comme il semble utile d'étudier d'autres concentrations pour les mêmes tests et d'effectuer d'autres tests biologiques confirmant l'efficacité de ces extraits naturels.

*Références
bibliographiques*

Produced with ScantOPDF

- (1) Majinda R. R. T., Abegaz B., Bezabih M., Ngadjui B. T., Wanjala C.C. W., Mdee L. K. et al. 2001. Recent results from natural products research at the University of Botswana. *Pure. Appl. Chem.* 73 (7): 1197-1208.
- (2) Cengiz S., M. Sabih O., Mustafa E., Bektas T., S_ endil C., Ebru M. 2010. Essential oil composition and antioxidant activity of *Thymus longicaulis* C. Presl subsp. *longicaulis* var. *longicaulis*. *Food. Chem. Toxicol.* 48: 1801-1805.
- (3) BRUNETON J. 1999. Pharmacognosie, photochimie .Plantes médicinales. Technique et documentaire, 3 Edition Lavoisier, Paris : 1120.
- (4) ZHIRI A. 2006. Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. *Nutra News. Science. Nutrition. Prévention et santé.* Edité par la Fondation pour le libre choix. *J. Drug target* : 12-8.
- (5) Chaker EL KALAMOUNI .2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées :49.
- (6) Jacques G. Paltz s.a. 1997. Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz".
- (7) CROTEAU R., KUTCHAN T., M et LEWIS N.G. 2000. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN B., GRUISSEM W., JONES R. (Eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* Am. Soc .Plant. Physiol : 1250-1268.
- (8) HERNANDEZ .O et LEON . R. 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant/ Actif ». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de Toulouse. France : 225.

- (9) Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A. 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J.Dairy.Sci.* 90 : 2580–2595.
- (10) MARIANNE.P.2008. ÉTUDE DES HUILES ESSENTIELLES D'ESPÈCES VÉGÉTALES DE LA FLORE LAURENTIENNE: COMPOSITION CHIMIQUE, ACTIVITÉS PHARMACOLOGIQUES ET HÉMI-SYNTÈSE : 12 ,13.
- (11) HELLAL Z.2011. Contribution a l'étude des propriétés antibactériennes antioxydant de certaines huiles essentielles extraites des Citrus, Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*):6.
- (12) PIBIRI M.C.2005. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctoral. Polytechniques Fédérale de Lausanne : 161.
- (13) Garnero J.1985. Semipreparative separation of terpenoids from essential oil. *Phytotherapy.* 15: 19.
- (14) Koedam A.1987. Some aspects of essential oil preparation in capillary gas chromatography in essential oils analysis. Sandra P., Bicchi C. Herdelberg, New York, :13-27.
- (15) Morin P., Richard H. 1985. Thermal degradation of linalyl acetate during steam distillation in Proc. 4 Fh Weurman Flav. Res. Symp. Elsevier Sci. Publ.,B.V. Amsterdam : 563-576.
- (16) Roulier G. 1992. Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie: propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Edt.Dangles. France :16.
- (17) Kato T., Lijima H., Ishihara K., Kanek T., Hirai K., Naito Y et al .1990. Antibacterial effect of listerine on oral bacteria. *Bull. Tokyo. Dent. Coll.* 31(4) : 301-307.

- (18) Schwartz R., Davis R. et Hilton T.J. 1992. Effect of temporary cements on the bond strength of resincement. *Am. J. Dent.* 5(3): 147-150.
- (19) Sourai P.G. 1989. Antimicrobial action of dental materials used in operative dentistry: *Rev. Odontostomatol .Proodos.* 43(5): 399-408.
- (20) Maruzzella J.C. 1962. The germicidal properties of perfume oils perfumery chemicals. *Am. Perfum. Cosmet.* 77(1): 67-72.
- (21) Vargas I., Sanz I et Prima-Yufera E. 1999. Antimicrobial and Antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed orange essential oil. *J. Food. Prot.* 62(8): 929-932.
- (22) Fenaroli G. 1995. *Fenaroli's Handbook of flavor ingredient*, 3rd ed. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.
- (23) Bilgrami K.S., Sinha K.K et Sinha A.K. 1992. Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by eugenol, onion, and garlic extracts. *Indian. J. Med. Res.* 96:171-175.
- (24) Busta F.F et foegeding P.M .1980. Chemical food preservatives. In S. block. "Disinfection, sterilization and preservation". Lea .febiger Eds. Philadelphia. USA: 656-694.
- (25) Hitokoto H., Morozomi S., Wauke T., Sakai S et Kurata H. 1980. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 818-822.
- (26) Tuberculosis prevention Trial. 1979. Trial of BCG vaccines in South India For Tuberculosis prevention. First report. *Bull.wld. Hlth. Org.* 57: 819-827.
- (27) a- Beraoud L., Bessière J.M. et Tantaoui Elaraki A. 1991. Chemical composition of the essential oils of selected plant materials used in Moroccan cuisine. *Al-Birunya Rev. Mar. Pharm.* 7: 49-69.

- (28) Beuchat L.R . 1976. Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. *J. Food. Sc.* 41: 899-902.
- (29) Madhyasta M.S et Bhat R.V. 1984. *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production on black and white pepper and the inhibitory action of their chemical constituents. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 376-379.
- (30) DORANTES L., COLMENRO R., HERNANDEZ H., MOTA L., JARAMILLO M.E., FERNANDEZ E et al .2000. Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extracts. *Int.J.Food.Microbio.*57: 125-128.
- (31) DJENANE D., SANCHEZ-ESCALANTE A., BELTRAN J.A et RONCALES P .2002. Ability of alpha tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. *Food Chem.* 76 :407-415.
- (32) DJENANE D., MEDDAHI A et RONCALES P. 2006. Les systèmes antioxydant et antimicrobien pour la conservation de la viande. *Sciences des Aliments* 26:37-73.
- (33) KUDA T., IWAI A et YANO T. 2004, Effect of red pepper *Capsicum annum* var. conides and garlic *Allium sativum* on plasma lipid levels and cecal microflora in mice fed beef tallow. *Food Chem Toxicol.*42 :1695-1700.
- (34) BOUSBLA N. 2004. Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin), étude de leurs activités antibactériennes. Thèse de Magistère. Option Sciences Alimentaires, INA. Algérie :147.
- (35) PAULI A. 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int.J. aromather.* 11:126-133
- (36) DORMAN H.J.D et DEANS S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbio.*88 (2): 308-316.

- (37) OUSSALAH M., CAILLET S., SAUCIER L. et LACROIX M. 2006. Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes*, *J. Food Prot.* 69 (5): 1046-1055.
- (38) CRISTIANI, D'ARRIGO M., MANDALARI G., CASTELLI F., SARPIETRO M.G et MICIELI D. 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *J. Agric. Food. Chem.* 55 : 6300-6308.
- (39) GUERIN-FAUBLEE V et CARRET G .1999. L'antibiogramme, principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées Nationales GTV- INRA : 5-12.
- (40) HADDADI M . Détermination de l'effet antibactérien des huiles essentielles de *lavandula Stoechas* et *Origanum Sp .alger*:15.
- (41) EYMARD S. 2003. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation de chinchard (*Trachurus trachurus*), choix de, précédés. Thèse de Doctorat en Génie des procédés (Ecole Doctorale en Génie des Précédés: Spécialité Biochimie, Nante, France :126.
- (42) ROBERT-D S.1995. Méthodes de dilutions. In Antibiotiques et antibiogrammes . . Thèse de Magistère Montréal-Canada : 131-137
- (43) PIBIRI M.C. 2005. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctoral. Polytechniques Fédérale de Lausanne(suisse).
- (44) MALECKY M. 2007. Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de Doctorat de l'institut des Sciences et Industries du vivant et de l' Environnement (Agro. Paris. Tech.).

- (45) TASSOU C.C., DROSINOS E.H et NYCHAS G.J.E. 1995. Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella* Enteritidis and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 and 10°C. *J. Appl. Bacteriol.* 78: 593-600.
- (46) Fansworth N R., Akeele O., Bingel A S., Soejarto D D et GuoZ. 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé.* 64 : 159-164.
- (47) Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R., Bernigault R. 2005. Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole* : 554-558.
- (48) Dacosta, Y. 2003. Les phytonutriments bioactifs. *Ed Yves Dacosta. Paris* : 317 .
- (49) Vansant G. 2004. Radicaux libres et antioxydants : principes de base. *Ed Institut Danone.*
- (50) Novelli G. P. 1997. Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Pharmacol.* 48 : 517-527.
- (51) Favier A. 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique *L'actualité chimique* : 108-115.
- (52) Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S et al. 2003. Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience et Nutrition.* 4 (6) : 7.
- (53) Vansant G. 2004. Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
- (54) Pincemail J., Meurisse M., LIMET R et DEFRAIGNE J.O. 1998. Mesure et utilisation des antioxydants. *J. Med. Sphere.* 73 : 233 - 239.

- (55) PIBIRI M.C.2005. Assainissement microbiologique de l'air et des systemes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctoral. Polytechniques Fédérale de Lausanne.
- (56) Mme hellal zohra. Contribution a l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*sardina pilchardus*). Thèse de magister biochimie appliquée et biotechnologies : 22.
- (57) Subhash C., Joshi., Arti R., Verma ., Chandra S., Mathel. 2010. Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species. *Food.Chem.Toxicol.* 48:37-40.
- (58) Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Faleiro L., Rejeb M., Neffati M.N., et al. 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. *Link. Food Chem.* 105: 146–155.
- (59) Mutai C., Bii C., Vagias C., Abatis D., Roussis V. 2009. antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. *J. Ethnopharmacol.*
- (60) Satrani B., Abdelilah F., Fechtal M., Taibi M., Blaghen M., Chaouch A.2001. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Satureja alpine* du Maroc. *Annales des Falsifications, Expertise Chimique et toxicologique.* 94 : 241–250.
- (61) Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A. et al., 2008. Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *ANIM. FEED. SCI. TECH.* 145 : 209-228.
- (62) Sikkema J., Bont J.A.M., Poolman B.1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol.Chem.* 269: 8022–8028.

- (63) Dorman H.J.D., Deans S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88: 308-316.
- (64) Sanja Č., Milka M., Marija E.Š., Anesa J.M., Renata B. 2008. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chem.* 111(3): 648-653.
- (65) Mehmet Ö. 2012. Anticholinesterase and antioxidant activities of Savoury (*Satureja thymbra* L.) with identified major terpenes of the essential oil. *Food Chem.* 134 (1): 48-54.
- (66) Gulcan O., Bedia S., Hakan K. 2007. Antioxidant activities of *Satureja cilicica* essential oil in butter and *in vitro*. *J. Food Eng.* 79 (4) : 1391-1396.

Site internet

[1]. http://translate.google.com/translate?hl=fr&sl=es&u=http://es.wikipedia.org/wiki/Satureja_calamintha&ei=IQErT9jXH8_oOZaT-ZYO&sa=X&oi=translate&ct=result&resnum=2&ved=0CCwQ7gEwAQ&prev=/search%3Fq%3Dsatureja%2Bcalamintha%2Bwiki%26hl%3Dfr%26biw%3D1024%26bih%3D673%26prmd%3Dimvns (date de consultation 15/03/2012).

[2]. http://translate.google.com/translate?hl=fr&sl=en&u=http://en.wikipedia.org/wiki/Calamintha&ei=bwlr1/lqGpLn_gaa5OmJDg&sa=X&oi=translate&ct=result&resnum=4&ved=0CDkQ7gEwAw&prev=/search%3Fq%3Dtaxonomie%2Bsatureja%2Bcalamintha%2Bwiki%26hl%3Dfr%26biw%3D1024%26bih%3D673%26prmd%3Dimvns (date de consultation 13/03/2012).

Annexes

Produced with ScanTOPDF

Annexe 1

Gélose Chapman

Composition en g/l

Extrait de viande.....	01 g.
Extrait de levure.....	03 g.
Tryptone.....	05 g.
Peptone bactériologique.....	10 g.
Chlorure de sodium.....	70 g.
Mannitol.....	10 g.
Rouge de phénol.....	0,025 g.
Agar.....	15 g.

pH = 7,4

Gélose Nutritive (GN)

Composition en g/l

Peptone.....	10 g.
Extrait de viande.....	03 g.
Extrait de levures.....	03 g.

Chlorure de sodium..... 05 g.

Agar..... 18 g.

pH=7,3±0,2

Gélose Mueller Hinton (M.H)

Composition en g/l

Extrait de viande.....03 g.

Hydrolysate acide de caséine..... 17,5 g.

Agar..... 18 g.

pH=7,4

Bouillon nutritif

Composition en g/l

Peptone..... 05 g.

NaCl.....05 g.

Extrait de levure..... 02 g.

Extrait de viande.....01 g.

Produced with ScanTOPDF

Annexe 2

Préparation de la solution de 0,5 Mc Farland

L'étalon 0,5 Mc Farland est préparé, en versant 0,5 ml d'une solution de BaCl₂ dihydraté à 1% (10 g/l), dans une éprouvette de 100ml. Compléter à 100 ml avec du H₂SO₄ à 1% (10 ml/l). Ainsi préparé, il doit avoir une DO. de 0,08 à 0,11 lue à 625nm

Préparation de tampon phosphate salin pH=7,4

Composition en g/l

NaCl.....	8 g.
KCl.....	0,2 g.
Na ₂ HPO ₄	1,44 g
KH ₂ PO ₄	0,25 g.

Résumé

Produced with ScanTOPDF

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier deux activités biologiques des huiles essentielles extraites de *Satureja calamintha*, d'une part, la révélation de leurs effets bactériostatique et bactéricide contre trois espèces bactériennes (*Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et d'une autre part l'étude de leur efficacité en inhibition de la peroxydation lipidique.

La partie expérimentale est composée de deux parties, dans une première approche, la révélation de la présence d'une activité antibactérienne est étudiée par les méthodes de diffusion par disque, diffusion en puits, et les micro-atmosphères, ensuite la technique des dilutions en bouillon nutritif est utilisée pour quantifier l'impact bactériostatique des extraits, suivie par un ensemencement sur gélose, l'action bactéricide des huiles essentielles est déterminée. Dans une deuxième approche, le dosage des composés secondaires de l'oxydation des lipides du foie de souris et de jaune d'œuf est étudié par la méthode de l'acide thiobarbiturique.

Les trois espèces bactériennes révèlent sensibles à l'action des huiles essentielles où les pourcentages d'inhibitions les plus élevés sont enregistrés pour *Klebsiella pneumoniae*,

De plus de l'action bactériostatique observée, ces extraits ont aussi une action bactéricide sur les espèces bactériennes étudiées, cette action a été notée à 40 $\mu\text{l/ml}$ contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* et à partir de 8 $\mu\text{l/ml}$ contre *Klebsiella pneumoniae*.

Les huiles essentielles étudiées ont fortement inhibé la peroxydation lipidique avec les deux sources lipidiques. Une réduction maximale de 26,27% a été l'effet d'une dose de 83,33 $\mu\text{l/ml}$ d'extrait à partir de l'échantillon du foie de souris, alors que la peroxydation lipidique issue du jaune d'œuf a été inhibée avec 81,17% avec une concentration en extrait égale à 50 $\mu\text{l/ml}$.

Mots clés : huiles essentielles, *Satureja calamintha*, activité antibactérienne, pouvoir antioxydant, peroxydation lipidique.

Abstract

The aim of this study was to evaluate two biological activities of essential oils extracted from *Satureja Calamintha*, one hand, the revelation of their bacteriostatic and bactericidal effects against three bacterial species (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) and on the other hand the study of their capacity to inhibit lipid peroxidation.

The experimental part consists of two parts, in a first approach, the presence of antibacterial activity was studied by the methods of disc diffusion, well diffusion and micro-atmospheres, then the tube dilution method was used to quantify minimum inhibitory concentration, followed by plating on agar, the bactericidal action of essential oils is determined. In a second approach, the thiobarbituric acid method was used to evaluate the inhibition of lipid peroxidation from egg yolk and liver of mice.

The three bacterial species showed sensitive to the action of essential oils where the highest inhibition was observed with *Klebsiella pneumoniae*.

Essential oils of *Satureja calamintha* have a bactericidal action against the three species, this action was noted at 40 $\mu\text{l/ml}$ against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and at 8 $\mu\text{l/ml}$ against *Klebsiella pneumoniae*.

The essential oils studied were strongly inhibited lipid peroxidation with the two lipid sources. A maximum reduction of 26.27% was the effect of 83.33 $\mu\text{l/ml}$ of extract against lipid peroxidation of liver mice, whereas lipid peroxidation of egg yolk was inhibited with 81.17% with a concentration of 50 $\mu\text{l/ml}$ of extract.

Key words: essential oils, *Satureja calamintha*, antibacterial activity, antioxidant activity, lipid peroxidation.

الهدف من هذا العمل هو دراسة نشاطين بيولوجيين للزيوت الطيارة المستخرجة من *Satureja calamintha*، والكشف عن أثرها الكايج و المضاد للبكتيريا ضد ثلاثة أنواع من البكتيريا (*Escherichia coli* ATCC 25922، و *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 و *Staphylococcus aureus* ATCC25923)، و من جهة أخرى دراسة مدى فعاليتها في منع أكسدة الدهون.

الجزء التجريبي يتألف من جزئين، أولاً تم الكشف عن وجود نشاط مضاد للبكتيريا و ذلك بتطبيق عملية الإلتشار بالقرص، وكذلك الانتشار بالأبار و المناخات المجهرية ثم تقنية التخفيفات من مرق المواد الغذائية لقياس تأثير الكايج للمستخلصات على البكتيريا كميًا، تليها الطلاء على جيلون، يتم تحديد العمل المضاد للبكتيريا من طرف الزيوت الطيارة، و من جهة أخرى تم دراسة جرعة المركبات الثانوية الناتجة عن أكسدة الدهون لكبد الفأر و صفار البيض بتقنية الحمض الثيوباربيتور.

وأظهرت الأنواع الثلاثة البكتيرية حساسية تجاه عمل الزيوت الطيارة كما سجلت نسبة مئوية للتثبيط هي الأعلى بالنسبة إلى *Klebsiella pneumoniae*.

زيادة على النشاط الكايج للبكتيريا الملحوظة، هذه المستخلصات لديها أيضا وظيفة مضادة على الأنواع البكتيرية التي تمت دراستها، حيث ظهر النشاط عند تركيز 40 ميكرو لتر/مل ضد كل من *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و ابتداءً من 8 ميكرو لتر/مل ضد *Klebsiella pneumoniae*.

الزيوت الطيارة المدروسة أظهرت قوة مضادة لأكسدة الدهون مع مصفري الدهن و كان الحد الأقصى هو 26.27 % من تأثير جرعة 83.33 ميكرو لتر/مل من مستخلص كبد الفأر في حين ناتج أكسدة الدهون من صفار البيض قد منعت التأكسد بنسبة 81.17 % مع تركيز المستخلص الذي يعادل 50 ميكرو لتر/مل.

كلغات البحث: الزيوت الطيارة، *Satureja calamintha*، النشاط المضاد للبكتيريا، المضادة للأكسدة، أكسدة الدهون.

Produced with Scantopdf

Produced with ScanTOPDF

U

Produced with ScanTOPDF