



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne in vitro des extraits méthanolique de *Salvia officinalis*. L de la région de chrea et une éventuelle utilisation en médecine vétérinaire.

Présenté par
REZKI Taklit

Devant le jury :

Président:	Khaled. H	MCB	ISV ,Blida 1
Examineur :	Mettai .M	MCA	ISV ,Blida 1
Promoteur :	Bentoura. S	MAB	ISV, Blida 1

Année : 2018-2019

Remerciement

A ALLAH le tout puissant

*A Madame Bentoura Siham doctorante en biotechnologie MAB
vacataire vétérinaire de Blida 1*

Je tiens à vous exprimer mes profondes et sincères gratitude, c'était un plaisir de travailler avec vous, votre gentillesse et votre générosité font de vous une maîtresse estimée et respectée.

Je vous remercie d'avoir accepté de diriger ce travail, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères reconnaissance et mes profonde admirations.

Aux membres de Jury:

A Mr Khaled H MCB .maitre de conférence à l'université de Blida 1, c'est un honneur d'avoir accepté de présider ce modeste travail, je tiens à vous présente mes sincères gratitude.

A Mr Mettai M. MCA .Maître assistant au Département d'agronomies. L'université de Blida 1, je tiens à vous présenter mes vifs remerciement pour avoir accepté d'examiner ce travail, espérons qu'il sera à la hauteur.

A Aigoun fares docteur vétérinaire, merci pour votre aide et vos conseils qui m'est sont très chers, hommage et respect pour vos qualités intellectuelles.

A tous les professeurs de l'institut vétérinaires Blida qui ont contribué a notre formation.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Mon cher père qui s'est toujours sacrifié pour mon éducation et qui m'a toujours entouré par son amour et son affection, je suis sûre qu'il aurait été très heureux aujourd'hui par le résultat de ses longues années de sacrifices. Tu resteras toujours gravé dans ma mémoire et mon cœur.

Ma chère maman qui a œuvré pour ma réussite par son amour et ses précieux conseils, je la remercie pour sa confiance qu'elle m'a toujours fait et son soutien moral dans les moments les plus difficiles, je te présente à travers ce travail l'expression de mon éternelle gratitude.

Mon cher grand frère, je te remercie pour toutes les valeurs, le soutien et l'amour venant de toi.

Mes sœurs adorées HOURA, AICHA et HALIMA, vous êtes mon exemple de persévérance, de courage et de générosité.

Ma chère petite sœur HOUDA, que dieu te bénisse ma princesse.

Mes chères copines AMINA, SABRINA, SEGHIRA, ZAHIA, SOUHILA, KHADIDJA, merci de m'avoir accompagné durant toutes ces années et pour tous les moments précieux qu'on a passé ensemble. Vous êtes mes adorables « groupe de choc »

Toutes personnes que je ne peux pas citer ici mais qui connaissent bien l'affection et l'amour que je leur porte.

Toute la promotions 2018/2019

Résumé

Les plantes médicinales sont une source importante d'antibiotiques naturels. La résistance des microorganismes aux antibiotiques de synthèse est un problème majeur en médecine vétérinaire.

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques obtenus par macération (EMM) des parties aériennes de la plante *Salvia officinalis*. L et une éventuelle utilisation en médecine vétérinaire.

L'étude phytochimique et les extractions réalisées sur *Salvia officinalis*. L. ont permis de quantifier les fractions apolaire et apolaire de 12,20 % \pm 0.06. La teneur en eau est de 24.68%. , la teneur en cendres est de 35,55%.

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques vis-à-vis des souches microbiennes étudiées a été effectuée par la méthode de diffusion sur disque révèle une bonne efficacité des extraits méthanoliques avec des ZDI de : 25.16 mm pour *S. typhimurium* 25,1mm *K.pneumoniae* : et 21,3mm pour *E.coli* : ces résultats obtenus montrent sensibilité des espèces testés vis à vis de l'extrait utilisé ,se rapprochant des résultats obtenus pour les trois antibiotiques synthétiques utilisés , cependant notre extrait méthanolique pourrait être une bonne alternative naturelle dans le traitement des maladies d 'origine bactériennes.

Mots clés : *Salvia officinalis*, extraits méthanoliques, activité phytochimiques, activité antibactérienne, antibiotique, ZDI.

ملخص

في ظل تزايد مقاومة الكائنات الحية الدقيقة للمضادات الحيوية الاصطناعية والتي تعتبر من أهم المشاكل التي تواجه الطب البيطري في يومنا الحالي. فان اللجوء إلى الحل البديل وهو استخراج مضادات حيوية طبيعية من النباتات الطبية الهدف من عملنا هذا هو إيجاد مضادات حيوية طبيعية واستبدالها مكان الاصطناعية. لهذا قمنا بدراسة حول نبات المرمية الذي يستخدم في الطب البيطري. يتركز عملنا هذا حول دراسة النشاط الكيميائي مستخلص الميثانول المضادة للبكتيريا ومقارنته مع ثلاثة مضادات حيوية حمض البيليميديك. الكلورامفينيكول. وحمض الفوكيدك. و هذا على ست سلالات بكتيرية. المكورات العنقودية الذهبية، سالمونيل التيفيموريوم، السيتروباكتير فريوندي، الإشريكية القولونية، الكلبسيلة الرئوية، المبيضات البيضاء. سيتروباكتار فروندي.

بينت نتائج دراسة النشاط الكيميائي النباتي (محتوى الماء، محتوى الرماد، العائد) من المستخلص الميثانولي ثراء النبات في المادة العضوية و نسبة مادة البوليفينول تبلغ 12.20%. وهي نسبة جيدة. بينما أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة نشر القرص كفاءة معتبرة في مستخلص الميثانول عن طريق تسجيل MIC بحيث س..تيفيموريوم 25.16مم . ك الرئوية 25.1مم ا القولونية 21.3مم.و ذلك من خلال مقارنتها مع النتائج المتحصل عليها من المضادات الحيوية الاصطناعية.

تبين النتائج المتحصل عليها انه هناك حساسية للبكتيريا التي تم اختبارها. و بالتالي يمكن استخدام مستخلص الميثانول بدلا من المضادات الحيوية الاصطناعية في حالة الالتهابات الناجمة عن هذه البكتيريا. و التي تكون أكثر فعالية.

الكلمات المفتاحية

المرمية. النشاط الكيميائي . مضاد حيوي. نشاط مضاد للجراثيم مستخلص الميثانول

Abstract

Medicinal plants are an important source of natural antibiotics. The resistance of microorganisms to synthetic antibiotics is a major problem in veterinary medicine.

The objective of this study is the evaluation of the antimicrobial activity of the methanolic extracts obtained by maceration (EMM) of the aerial parts of the plant *Salvia officinalis*.L and a possible use in veterinary medicine.

Phytochemical study and extractions carried out on *Salvia officinalis*. L. made it possible to quantify the polar and apolar fractions of $12.20\% \pm 0.06$. The water content is 24.68%. , the ash content is 35,55%.

The study of the antimicrobial activity of the methanolic extracts with respect to the microbial strains studied was carried out by the disk diffusion method, which reveals a good efficacy of the methanolic extracts with ZDI of: 25.16 mm for *S. typhimurium*, 25. 1mm *K.pneumoniae*: and 21.3mm for *E. coli*: these results show a sensitivity of the tested species to the extract used, approaching the results obtained for the three synthetic antibiotics used, however our methanolic extract could be a good natural alternative in the treatment of bacterial diseases.

Key words: *Salvia officinalis*, methanolic extracts, phytochemical activity, antibacterial activity, antibiotic, ZDI.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....	1
Chapitre 1 :les plantes médicinales	
1. La phytothérapie.....	3
1.1. Définition	3
2. Les plantes médicinales	3
2.1. Définition	3
2.2. L'action des plantes médicinales.....	4
2.3. Les avantages des plantes médicinales.....	4
2.4. Propriétés thérapeutiques des plantes en phytothérapie	4
2.5. Mode d'administration et utilisation thérapeutique	5
3. Les métabolites secondaires.....	6
3.1. Définition du métabolite	6
3.2. Les composés phénoliques.....	7
3.3. Les flavonoïdes	7
3.4. Alcaloïdes.....	8
3.5. Composés terpéniques.....	8
4. Utilisation des plantes médicinales en médecines vétérinaires.....	8
5. Toxicologie	10
6. Etude de la plante	11
6.1. Présentation de la plante	11
6.2. Choix de la plante	11
6.2.1. Localisation.....	11

6.2.2.	Description botanique.....	12
6.2.3.	Classification taxonomique.....	13
6.3.	Propriété et utilisation.....	13
6.4.	Propriétés pharmacologiques.....	14
6.5.	Domaine d'application et l'intérêt en phytothérapie	14
6.7.	Quelques propriétés thérapeutiques	16
6.7.1.	Activité antioxydante	16
6.7.1.1.	Les antioxydants endogènes	16
6.7.1.2.	Les antioxydants exogènes.....	16
6.7.1.3.	Mécanismes d'action des antioxydants.....	17
6.7.2.	Activité antimicrobienne.....	17
6.7.2.1.1.	Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne	18
Chapitre 2 : antibiogramme		
1.	Les antibiotiques.....	19
1.1.	Chloramphénicol (50µg).....	19
1.2.	PI : Acide Pipémidique (20µg)	19
1.3.	FA : Acide Fucidique (10µg).....	20
2.	Les souches bactériennes.....	21
2.1.	Staphylococcus aureus	21
2.1.1.	Caractères généraux	21
2.1.2.	Habitat et rôle pathogène.....	21
2.2.	Escherichia coli	22
2.2.1.	Caractères généraux	22
2.2.2.	Habitat et rôle pathologies	23
2.3.	Pseudomonas Aeruginosa	24
2.3.1.	Caractères généraux	24
2.3.2.	Habitat et rôle pathogènes	25
2.4.	Klebsiella pneumoniae	255
2.4.1.	Caractères généraux	255
2.4.2.	Habitat et rôle pathologiques.....	266
2.5.	Citrobacter freundii	276
2.5.1.	Caractères généraux	277
2.5.2.	Habitat et rôle pathologiques.....	277
2.6.	Salmonella typhimurium	288
2.6.1.	Caractères généraux	288

2.6.2. Habitat et rôle pathologiques	288
2.7. Candida	
albicans.....	Erreur ! Signet non défini.
2.7.1. Caractères généraux	299
2.7.2. Habitat et rôle pathologiques	299
Partie 2:partie pratique	
1. Matériel biologique utilisé	30
1.1. Le lieu de récolte	30
1.2. Séchage et broyage	30
2. Méthodes.....	32
2.1. Identification botanique de la plante	32
2.2. Détermination de la teneur en eau	32
2.3. Détermination de la teneur en cendres	32
2.4 .Activité antimicrobienne.....	33
2.5. Les extraits (extrait Méthanolique)	34
2.6. Les antibiotiques	34
3.7. Etapes préliminaires :	34
3.7.1. Coulage des milieux de cultures :	34
1. Résultats de l'étude phytochimique	35
1.1. Détermination de la teneur en eau de la plante fraîche.....	35
1.2. Taux d'humidité de la poudre sèche	35
1.3. Détermination de la teneur des cendres.....	36
2. Dosage de certains principes actifs de <i>Salvia officinalis</i> L.....	36
2.1. Composés non volatiles polaires et non polaires.....	36
3. Activité antimicrobienne	37
3.1. Sensibilité vis-à-vis des antibiotiques.....	37
4. Sensibilité vis-à-vis de l'extrait méthanolique	39
Conclusion	Erreur ! Signet non défini.
Références bibliographiques	45
Annexes	51

Liste des tableaux

Tableau 1: les composés phénoliques rapportés.....	16
Tableau 2: Les principaux antioxydants retrouvés dans les aliments.....	17
Tableau 3: Souches bactériennes et la souche fongique utilisées.....	31
Tableau 4: les disques d'antibiotiques	34
Tableau 5: Teneur en eau et matière sèche chez <i>Salvia officinalis</i> . L.	35
Tableau 6: Teneur des cendres	36
Tableau 7: Pourcentages de la fraction polaire et apolaire des extraits méthanolique de <i>Salvia officinalis</i> . L.....	36
Tableau 8: Résultats de l'antibiogramme (diamètres moyens des zones d'inhibitions \pm écarts types en mm). CHL (Chloramphénicol 30 μ g), PI (acide Pipémidique 20 μ g), FA (Acide Fucidique 10 μ g).....	38
Tableau 9: Les résultats du degré de sensibilité des souches vis-à-vis des extraits M-OH sont réunis dans le	40

Listes des figures :

Figure 1: Lieu d'habitat de Savia officinalis. (Chreaa, septembre,2018)	12
Figure 2: Savia offiinalis.L en floraison Figure 3: Salvia officinais. L avant floraison.....	12
Figure 4: Principe de la méthode de diffusion par disque. (Guerrin et al. ,1983).	18
Figure 5: Aspect microscopique de Staphylococcus aureus (GX1000) ((Docplayer.2018)..	21
Figure 6: Aspect microscopique d'Escherichia coli (ME :A) et (MP : B) (Docplayer,2018)..	23
Figure 7: Aspect microscopique de Pseudomonas aeruginosa au M E B (A) et P. aeruginosa au MP(Gx1000) (B)(Docplayer,2018).	24
Figure 8: Aspect de Candida albicans au MP (G x 1000) (Docplayer.2018).	29
Figure 9: Observation de Klebsiella pneumoniae au MP après coloration de gram(B) et au MEB (A(Docplayer.2018).	26
Figure 10: Observation de Citrobacter freundii au Microscope Photonique après coloration de Gram. (Gx400) (Docplayer.2018).	27
Figure 11: la situation géographique de chrea .Blida (Google earth.2019).....	30
Figure 12: la plante sèche et sa poudre	31
Figure 13: Taux d'humidité de Savia officinalis. L	35
Figure 14: Pourcentages de la fraction polaire et apolaire de Salviaofficinalis. L.	37
Figure 15: Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions des souches vis-à-vis des ATB..	39
Figure 16: Effet des antibiotiques sur les souches bactériennes.....	39
Figure 17: Effet de l'extrait méthanolique de Salvia officinalis. L sur quelques souches microbiennes (DZI : diamètres des zones d'inhibitions en mm).....	41

Liste des abréviations

S.officinalis :*Salvia officinalis*

ATB : Antibiotique

Chl : Chloramphénicol

PI : Acide Pipèmidique

FA : Acide Fucidique

LCR : liquide céphalo-rachidien

E. coli : Escherichia coli

ODC : Ornithine décarboxylase

ADH : Arginine –dihydrolase

LPS: lipopolysaccharide

S. aureus : Staphylococcus aureus

ADN : Acide désoxyribonucleique

P.aeruginosa :*Pseudomonas aeruginosa*

C.albicans :Candida albicans

K.pneumoniae : Klebsiella pneumoniae

C.freundii: Citrobacter freundii

S.typhimurium :*Salmonella typhimurium*:

ATCC:American type culture collection

Extrait M OH : Extrait méthanolique

AFNOR : Association Française de Normalisation

ATCC: American. Type Culture Collection

Cm : Centimètre

G:Gramme

Introduction

Dans de nombreuses régions du monde, des hommes et des femmes font appel à leur savoir traditionnel et ancestral pour soigner leurs animaux. Ces pratiques à base de plantes médicinales reposent sur des centaines d'années de croyances et d'observations et sont bien antérieures au développement de la médecine vétérinaire moderne dite conventionnelle. Ces connaissances, ces croyances et ces pratiques concernant la santé animale sont regroupées sous le terme de médecine ethno vétérinaire. Ce savoir concernant la médecine vétérinaire traditionnel, l'usage des plantes et leurs propriétés médicinales est transmis de génération en génération.

Le recours aux plantes médicinales pour se guérir a pris naissance depuis bien longtemps en médecine traditionnelle grec, romaine, indienne, chinoise et arabo-musulmane. Au niveau national et d'après une enquête réalisée dans le cadre d'une étude sur l'utilisation des plantes en médecine traditionnelle, 71% des personnes interrogées utilisent les plantes médicinales et aromatiques pour se faire soigner. De nombreuses formes médicamenteuses à base de plantes ou de substances végétales ne cessent de croître à l'échelle mondiale ([Wichtet Anton, 2003](#)).

Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (Lhuillier, 2007).

Les propriétés biologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Yano et al, 2006).

Au fil du temps, la résistance des microorganismes aux antibiotiques se manifeste de plus en plus, et l'utilisation de produits chimiques comme agents antimicrobiens a donné naissance à des maladies infectieuses graves (Davis, 1994; Service, 1995).

La famille des labiées dispose d'une grande diversité floristique, elle est connue depuis longtemps, comme étant l'une des plantes les plus répandues dans le bassin méditerranéen et spécialement en Algérie. Elle compte plus de 200 genres dont 31 genres se trouvent en Algérie et environ 400 espèces dont 150 poussent en Algérie.

La plante choisie dans notre étude est *Salvia officinalis*. L, La sélection de cette dernière est basée sur le fait qu'elle appartient aux plantes aromatiques les plus populaires utilisées dans le

monde entier. Elle est employée fréquemment par nos populations dans le domaine culinaire ,dans la médecine traditionnelle ,ses huiles essentielles sont utilisées dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Aussi, leur efficacité est reconnue traditionnellement dans le traitement symptomatique de troubles de l'appareil digestif supérieur. A cet égard, les plantes peuvent fournir une bonne alternative à la recherche de nouveaux produits chimiques avec un large éventail d'activités. C'est pourquoi, le présent travail a été entrepris afin de mettre en exergue les vertus de *Salvia officinalis*. L, plante médicinale largement distribuée en Algérie. Cette plante représente un sujet de recherche scientifique intéressant.

Notre étude consiste à la recherche de l'activité antimicrobienne in vitro de l'extrait méthanolique de *salvia officinalis*. L.

Elle comporte deux parties distinctes :

Première partie : étude phytochimique de la plante *salvia officinalis* .L

Deuxième partie : étude de l'effet antimicrobien et antifongique des extraits méthanolique de *Salvia officinalis* sur quelques souches microbiennes.

Partie Bibliographique

Chapitre 1 : Les plantes médicinales

1. La phytothérapie

1.1. Définition

La phytothérapie (en grec phyton=plante et therapein=soigner) est une science qui désigne le traitement des maladies par des plantes. Elle permet à la fois de traiter la maladie et les ses symptômes. (Nelly, 2013).

On appelle phytothérapie, la thérapie par les plantes, elle signifie essentiellement « se soigner avec les plantes ». Elle désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes naturels.

On peut la distinguer par trois types de pratiques ([Sebai., Boudali, 2012](#)).

- ❖ Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation des plantes selon leurs vertus découvertes empiriquement.
- ❖ Une pratique basée sur les avancées et preuves scientifiques qui recherchent les principes actifs dans les plantes.
- ❖ Une pratique de prophylaxie, déjà utilisée dans l'antiquité (explique le fait qu'on est tous des phytothérapeutes sans le savoir).

Son utilisation a connu un essor au cours des dernières années suite au développement important des antibiorésistances au sein des bactéries. , motivant ainsi la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. Dans le domaine alimentaire dit (bio), elle entraîne aussi une demande accrue pour ces pratiques. (Brusselle,2017).

2. Les plantes médicinales

2.1. Définition

Une plante médicinale est une plante que l'on utilise pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Elles sont des espèces végétales actives sur la santé, et présentent un risque toxique faible dans les conditions normales d'utilisation.

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques bénéfiques pour la santé humaine et animales. En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur. (Duterte, 2011).

2.2. L'action des plantes médicinales

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Toutefois, on considère que les plantes et leurs effets thérapeutiques sont en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs des extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique. (Iserin et al., 2001).

2.3. Les avantages des plantes médicinales

Les plantes aromatiques constituent une catégorie très particulière, et ceci est due au fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées les huiles essentielles (Iserin, 2001). Ces plantes, connues depuis l'antiquité, sont généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agent antibactérien et antifongique. Ces propriétés antifongiques ont été confirmées par de nombreux travaux sur les souches de levures, dermatophytes et aspergillus (Pinto et al., 2003), et présentent un potentiel thérapeutique, principalement dans les maladies fongiques impliquant les muqueuses, la peau, et autres infections des voies respiratoires. La majorité des plantes médicinales et aromatiques sont aussi utilisées en médecine populaire comme antiseptiques, antimicrobiens et antioxydants.

2.4. Propriétés thérapeutiques des plantes en phytothérapie

Les molécules actives des plantes étant très variées, il en est de même pour les propriétés thérapeutiques qui en découlent, dont nous allons donner quelques exemples (non exhaustifs) :

- ❖ **Activité antibactérienne** : de nombreuses plantes sont utilisées en phytothérapie pour leur activité antibactérienne. C'est le cas de la bardane (*Arctium lappa*), dont les extraits de racine ont un effet antibactérien. (Ewards . 2015).
- ❖ **Activité antivirale** : l'exemple le plus connu est le cyprès (*Cupressus sempervirens*), dont l'extrait possède une activité virucide et virostatique. (Astani, et al, 2010).
- ❖ **Activité antiparasitaire** : la phytothérapie peut être utilisée contre les parasites, notamment internes (exemple : lutte contre les vers intestinaux des petits ruminants). (Githiori et al., 2006).

- ❖ Activité anti-inflammatoire : on peut prendre l'exemple du cassis, qui possède un effet inhibiteur COX/LOX, ou du curcuma qui réduit l'action des cytokines pro-inflammatoires TNF- α . (Touet,2015).
- ❖ Activité immunostimulante : certaines plantes sont utilisées pour leur action stimulante de l'immunité. Ainsi, les extraits d'échinacée (*Echinacea purpurea*) stimulent l'action phagocytaire des macrophages. (Bachelet. B.,2013).
- ❖ Activité protectrice des grandes fonctions : on peut citer l'exemple des extraits de Chardon-Marie (*Silybum marianum*), hépatoprotecteurs par leurs propriétés antioxydantes et antiradicalaires, stabilisatrices de la membrane cytoplasmiques, inhibitrices de la transformation d'hépatocytes en myofibroblastes conduisant à la fibrose hépatique.(Mouille. R.,2014).
- ❖ Activité antioxydante, qui permet une protection de la fonction rénale, lorsque celle-ci est altérée suite à la toxicité induite par certaines molécules anticancéreuses.(HEIDAR., 2017).
- ❖ Activité antistress : la phytothérapie est souvent utilisée pour diminuer le stress, combattre les insomnies ou les troubles comportementaux (avec l'utilisation de plantes reconnues en médecine humaine, telles que la valériane, l'aubépine, la passiflore), ou traiter les troubles systémiques dus au stress.(Kelly. G.,2010).

2.5. Mode d'administration et utilisation thérapeutique

Dans le domaine vétérinaire, l'administration des plantes médicinales se base sur l'utilisation de la plante telle qu'elle est achetée ou bien préparer sous forme de cataplasme (maintenue contre la peau par un bandage).

Les plantes ou parties de plantes peuvent être utilisées sous différentes formes :

- ❖ Plantes sèches : forme la plus simple et la moins coûteuse, la plante ou partie de plante est simplement séchée et utilisée comme telle.
- ❖ Poudre : une fois séchée, la partie de plante est broyée et pulvérisée. Peu utilisée à l'état, de poudre peut être mélangée avec d'autres poudres, avec des excipients.
- ❖ Préparations pour tisanes : le principe actif est récupéré en versant de l'eau bouillante sur la partie de plante concernée, puis filtration . Ces préparations peuvent être des infusions, lorsque la partie de plante utilisée est fragile (feuilles, fleurs...), ou des décoctions, lorsque la partie de plante est solide (bois, écorce, racines, fruits, graines...).

- ❖ Macérations : consiste à laisser tremper la plante pendant un temps variable (de quelques heures à quelques semaines) dans des solvants d'extraction (eau, alcool...). Il existe différents types de macérations selon la quantité de plante et l'extracteur utilisé :
- ❖ Teinture mère : macération alcoolique avec un titre alcoolique variant de 60 à 90°. La quantité de plantes correspond à 1/10 du poids du liquide d'extraction. Après la macération, le titre en alcool de la teinture mère varie généralement entre 60 et 75°.
- ❖ Extraits hydro-alcooliques-glycérinés : Même principe que la teinture mère, mais avec un taux alcoolique du liquide d'extraction faible (environ 20°).
- ❖ Teinture : le degré alcoolique est variable, mais la teneur en plante est cette fois de 1/5 du poids du liquide d'extraction.
- ❖ Extraits secs pulvérisés : différents des poudres. Les principes actifs sont extraits par macération dans de l'eau ou de l'alcool, le liquide obtenu est filtré à basse pression et basse température, puis concentré. Le solvant est ensuite éliminé par séchage.
- ❖ Suspension de plantes fraîches : les plantes sont refroidies dans de l'azote liquide, broyées et mises en suspension dans de l'alcool à faible titre alcoolique (environ 30°). Cette technique est coûteuse. (Brusselle.M.,2017).

3. Les métabolites secondaires

3.1. Définition

Ce sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules. Les métabolites ont diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes.

Les métabolites secondaires se définissent comme les molécules produites par des organismes vivants (plantes, champignons, bactéries...), ne jouant pas de rôle direct pour les fonctions vitales de l'organisme, c'est-à-dire la nutrition, la croissance, et la reproduction. (Bourgaud et al., 2001). Le concept est historiquement attribué à Kossel depuis 1891 qui l'introduisit par opposition à celui de métabolites primaires, ces derniers étant directement impliqués dans les grandes voies du métabolisme basal de la cellule.

Ils appartiennent à trois familles de composés. (Krief, 2003).

- Les alcaloïdes et composés azotés
- Les composés phénoliques (les phényl propanoïdes, les flavonoïdes, les lignines)
- Les composés terpéniques ou isopropanoïdes

Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine.

3.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues dans le règne végétal. Ils sont présents dans tous les fruits et légumes. Plus de 8000 structures ont été identifiées, molécules simples comme les acides phénoliques, jusqu'aux substances hautement polymérisées comme les tanins. (Dai et Mumper., 2010). Ces molécules constituent la base des principes actifs trouvés chez des plantes médicinales. Ils possèdent un effet antioxydant, antibactérien et antifongique et ils sont des protecteurs contre l'apparition de certains cancers. (Macheix et al., 2006). Les polyphénols peuvent se regrouper en deux grands groupes ; les non flavonoïdes dont les principaux composés sont les acides phénoliques, stilbènes, lignanes, lignines et coumarines , et les flavonoïdes dont on caractérise principalement les flavones, flavanones, flavonols, isoflavonones, anthocyanines, proanthocyanidines et flavanols. (Pincemail et al., 2007).

3.3. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde signifie jaune en latin (= flavus en latin) (Ribereau-gayon, 1968), il désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, fruits et parfois des feuilles. (Bruneton, 1999). Ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal, ce qui explique une grande part de leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire et des colorants. Ils possèdent en outre un intérêt médical considérable. (Vauzour et al., 2001). Les flavonoïdes sont des molécules tricycliques dérivées de l'acide cinnamique, et sont variables selon les groupes fonctionnels rattachés à la molécule. Les proanthocyanides sont des oligomères de flavonoïdes. Les tannins, polymères de flavonoïdes, seront traités à part. Les flavonoïdes et les proanthocyanides sont connus pour avoir une bonne activité antioxydant. Ils peuvent avoir d'autres propriétés en fonction des groupes fonctionnels présents.

3.4. Alcaloïdes

Les alcaloïdes font partie des principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine. (Raven et al., 2000). Ce sont des substances organiques azotées, avec des propriétés basiques ou amères ayant des propriétés thérapeutiques ou toxiques. (Delille, 2007). Les alcaloïdes sont utilisés comme anti-cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson). (Iserin et al., 2007).

Ce sont des composés hétérocycliques contenant de l'azote. Malgré une structure différente, on leur associe les pseudo-alcaloïdes, qui sont des terpénoïdes contenant de l'azote, et les proto-alcaloïdes qui contiennent une fonction amine hors d'un cycle carboné. D'une manière générale, les alcaloïdes agissent comme stimulants digestifs. Du reste, leur activité thérapeutique est variée. (Brusselle, 2017).

3.5. Composés terpéniques

Les terpènes sont les principaux constituants des inclusions huileuses rencontrées dans les tissus sécréteurs des plantes. Souvent volatiles, ils se vaporisent donnant les essences auxquelles beaucoup des plantes doivent leur parfum. On leur donne souvent le nom d'huiles essentielles. (Jean et al., 2012).

4. Utilisation des plantes médicinales en médecines vétérinaires

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie, et en pharmacie. La pharmacie utilise aussi une forte proportion de médicament d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse. (Bahorum, 1997).

Il y a eu donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés et les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effets secondaires défavorables. Ainsi une recherche de nouvelle drogue est un choix normal. (Scientific Correspondance, 2003).

En milieu rural, le tradi-praticien de santé récoltait ou faisait récolter les plantes médicinales pour chaque traitement en fonction du patient avec les rituels bien précis :

- Respect de la plante.
- Quantité limitée.

- Utilisation immédiate.
- Pas de problème de conservation.

La phytothérapie agit surtout en stimulant les fonctions biologiques (reprise du transit, augmentation de la filtration rénale, de la sécrétion biliaire, etc...). En élevage, elle trouve donc toute son utilité en prévention, en soutien et en convalescence, notamment lors de troubles subaigus ou chroniques. Elle viendra parfois en complément la médecine conventionnelle (ou autre) en cas de déséquilibre grave. Les plantes médicinales ont des propriétés qui leurs sont propres. Elles sont en général associées à un appareil (urinaire, cutané, respiratoire,...) et ont des effets vis-à-vis de cet appareil que le phytothérapeute doit connaître.

Il convient donc de commencer par une consultation classique, avec un examen de l'animal, de l'anamnèse et des commémoratifs, dans le but d'établir un diagnostic. Cette étape est indispensable. Le thérapeute doit ensuite se demander si la phytothérapie est possible et adaptée à la pathologie mise en évidence et si elle doit être administrée seule ou en complément d'un autre traitement. Il faut ensuite formuler un complexe phytothérapique correspondant à tous les traits de la pathologie. Pour cela, il est conseillé d'associer des extraits de plantes indiquées dans cette pathologie et contenant des principes actifs différents (il faut donc avoir de bonnes notions sur la composition des plantes médicinales). Il est ensuite conseillé d'associer à ces plantes principales des plantes ayant des effets complémentaires favorables (stimulation des émonctoires, reprise du transit,...). Pour obtenir une formulation d'excellente qualité, il est préférable, si possible, d'utiliser des plantes cumulant plusieurs effets favorables (Bachelet ,2013).

La dose à administrer dépend de nombreux facteurs, tels que le poids de l'animal, la concentration en principes actifs dans la forme galénique choisie, l'absorption de ces substances, d'une éventuelle association avec d'autres plantes et la nature et la chronicité de la pathologie. Le traitement commencera en général par une dose conservatrice (dictée par l'expérience du prescripteur) qui pourra être ensuite augmenté en fonction de la réponse de l'animal. La durée du traitement est fonction de la chronicité de la pathologie. (Brusselle,2017).

Les galéniques les plus indiquées chez les bovins sont les plantes sèches à incorporer dans la ration ou en infusion, les extraits de plante (fluide ou hydro-alcool-glycériné) et la

teinture mère. Il faut, en moyenne, 30 à 100g de plante sèche ou d'extrait fluide pour un bovin de 600kg par jour. (Duterte, 2011).

5. Toxicologie

Tout comme leur efficacité, la toxicité des plantes médicinales dépend de l'espèce à laquelle elles sont administrées, du dosage et de leur composition (conditions de culture, de stockage et le cas échéant d'extraction). Cependant, les plantes utilisées en phytothérapie sont traditionnellement reconnues pour leur absence de toxicité forte, bien que les véritables études toxicologiques ne sont que rarement réalisées. (Labre, 2007). Les cas d'intoxication seront donc aussi dus à des mésusages (mauvaise identification de la plante, surdosage, modification de la voie d'administration,...), à une concentration inhabituelle de principe toxique au sein de la plante (métaux lourds, toxines,...) ou à une interaction médicamenteuse. La toxicité interne des plantes est pourtant une réalité et semble sous-estimée par les consommateurs mais aussi par les praticiens, il convient donc de ne pas la négliger et de rappeler que si l'on part habituellement du postulat que les plantes thérapeutiques traditionnelles ne sont pas nocives, bien souvent cette affirmation ne repose sur aucune donnée scientifique. La liste des mésusages possibles est longue : confusion avec une plante toxique, utilisation de la mauvaise partie du végétal, mauvais dosage, mauvaise conservation. Ces erreurs sont plus fréquentes lors d'automédication. Il est aussi nécessaire de se procurer des produits de bonne qualité, ce qui est encore en grande partie sous la responsabilité du prescripteur, la réglementation et les contrôles n'étant pour l'instant pas suffisants.

Plusieurs types de molécules peuvent entrer dans la composition des plantes suite à une contamination de leur environnement de croissance ou de stockage. Outre les métaux lourds, nous pensons principalement aux pesticides, aux herbicides et aux toxines (d'origine bactériennes ou fongiques). Cependant, ces règles ne semblent pas toujours respectées, surtout lorsqu'il s'agit de la commercialisation de matières premières (plantes ou extrait de plantes destinés à être utilisés dans des préparations extemporanées). Ces substances peuvent être dangereuses pour l'animal traité mais aussi pour le consommateur qui se trouve au bout de la chaîne alimentaire. Afin de prévenir ce phénomène, les traitements au long terme peuvent être évités. (Delphine, 2011).

6. Etude de la plante

6.1. Présentation de la plante

"Qui a de la sauge dans son jardin, n'a pas besoin d'un médecin" (dicton provençal)

Salvia officinalis est une plante appartenant de la famille des Lamiacées qui comprend plus de 900 espèces, annuelles, bisannuelles, vivaces ou arbustives (Wikipédia, 2018). Ce sont des plantes très ramifiées, aux tiges de section carrées, fleurs en forme de lèvres disposées en épi terminaux, la floraison commence par le bas de l'épi et remonte; chaque étage de feuille se place à 90 degrés par rapport aux étages inférieurs et supérieurs. (Chougui, 2009).

Les sauges présentent une grande diversité au niveau :

- Des feuilles, petites, découpées, grandes, allongées, rondes, duveteuses, lisses, gaufrées, vertes argentées, pourpres, panachées, caduques ou persistantes.
- Des fleurs aux nombreux coloris clairs ou foncés, pastel ou vifs, bleu, blanc, rose, rouge, jaune; de plus, la durée et l'importance de la floraison est exceptionnelle.
- Du port : couvre sol, buissonnant, érigé de 10 cm à 1m20 et plus. (Flora of China, 2018).

6.2. Choix de la plante

6.2.1. Localisation

Salvia officinalis est une plante commune dans les pays du pourtour méditerranéen, elle existe dans les endroits très ensoleillés, on la cultive par semis au printemps. Les plantes sont remplacées tous les 3 ou 4 ans et les feuilles sont récoltées en été. (Maatoug, 1990). Elle est cependant rare à l'état sauvage, de nombreuses variétés vendues dans les jardinerie dérivent de la sauge officinale. La sauge officinale, d'origine méditerranéenne, est très abondante dans les montagnes dalmates et macédoniennes. (Iserin, 2001). Elle pousse sur les terres chaudes des collines rocheuses et calcaires, d'une façon spontanée sur des terres arides aux sols bien drainés des régions méridionales tempérées et ensoleillées, et elle résiste à la sécheresse. En Provence, il est possible de récolter la sauge toute l'année, elle est souvent cultivée dans les jardins comme une plante médicinale et condimentaire. (Haloran, 2001).

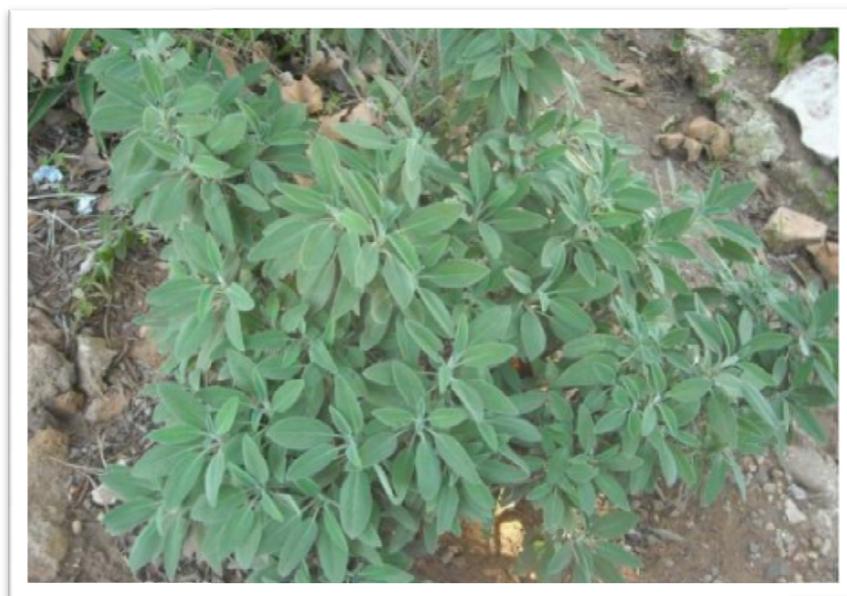


Figure 1: Lieu d'habitat de *Salvia officinalis*. (Chrea, septembre,2018)

6.2.2. Description botanique

Arbrisseau buissonnant vivace ,haut de 0,5 à 1 m ,très rameuse et très aromatique ;feuilles persistantes ,pétiolées opposées, lancéolées et aigues ,finement crénelées ,pubescentes grisâtres ; fleurs d'un bleu-violacé , assez grandes ,pédicellées , 3 à 6 cm ;verticilles un peu lâches formant une grappe simple ;bractées ovales –acuminées , corolle de 2 à 3 cm de long ,calice à tube muni en dedans d'un anneau de poils à lèvre supérieur presque droite .Les fruits sont des tétrakènes.(kothe,2007 ,Beloued,1998).

- Type d'inflorescence : glomérules spiciformes.
- Période de floraison : mai à juillet.
- Répartition des sexes : hermaphrodite. (Wikipédia, 2014)



Figure 2: *Salvia officinalis*.L en floraison Figure 3: *Salvia officinalis*. L avant floraison

6.2.3. Classification taxonomique

Règne :Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Classe :Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille :Lamiaceae

Genre :Salvia

Espèce :Salvia officinalis .L

Noms vernaculaire :

Français: Grande sauge, thé d'Europe, herbe sacrée.

Anglais: Sage, Great sage, Garden sage.

Arabe:Souak en nabi, salmia et maramia

Berbère :Tazourt

6.3. Propriété et utilisation

La sauge, connue depuis des siècles pour ses propriétés stimulantes, Antispasmodique, diurétique, cholérétique, antiseptique, vermifuge, la sauge jouit d'une réputation universelle qui en fait une véritable panacée.

Les feuilles ont une odeur agréable qu'ont suscitée son utilisation culinaire, son usage stimule l'appétit et améliore dyspepsies et atonies gastro-intestinales.

La sauge possède aussi un effet hypoglycémiant, emménagogue, cholagogue, vulnéraire et antiseptique. Cette dernière propriété est recherchée pour traiter les infections de la cavité buccale et lutter contre les hémorragies digestives.(Ben Khedher,2017).

Des examens histologiques sur les rats ont révélé la disparition de nécrose hépatique et l'infiltration des cellules inflammatoires après avoir traité ces animaux avec l'infusion aqueuse de Salvia officinalis.

- ❖ Salvia officinalis, est utilisée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer ; elle augmente la disponibilité synaptique de l'acétylcholine, par inhibition de l'acétylcholine

estérase, de ce fait, la sauge aide à améliorer les fonctions cognitives, chez les patients souffrant de cette maladie.

- ❖ Infusion à partir des feuilles utilisée en gargarisme jusqu'à 3 fois par jour en cas de coup de froid, toux et rhumatisme.(El-Hilaly et al .,2003).
- ❖ Elle réduit la transpiration lorsqu'il est pris sous forme de thé, l'action commence environ 2 heures après avoir bu le thé et peut durer plusieurs jours .(Fluck, 1988).
- ❖ Indigestion : la Sauge officinale a une certaine valeur dans le soulagement de l'indigestion avec du gaz ou la douleur spasmodique (Evans, 1989).
- ❖ Débilité sexuelle (Brown,1993) a déclaré en 1875 :“ Elle est appelée par certains un remède le plus capital pour spermatorrhée, et pour le désir vénérienne excessive, et je suis de ceux qui savent d'expérience dans ma pratique, qu'il est grand pour ce qui est appelé faiblesse sexuelle lorsque son utilisation est indiquée“.
- ❖ Soins de la peau : Pour les grands ports, la sauge peut être utile comme compresse ou infusion. Il peut être utilisé pour effet similaire à un masque. Une crème à base de sauge peut être utilisée pour les boutons de fièvre près de l'embouchure (Back ,1987).
- ❖ Baignade et lavage : elle est également utilisée dans des bains pour traiter les problèmes de peau (Stuart, 1986).
- ❖ D'autres références citent les propriétés suivantes : cicatrisante, antiseptique, tonifiante, antirhumatisme dans des bains, pour les plaies atones, des plaies, les ulcères, les dermatoses (eczéma) (Valnet, 1986) (Spiridon, 2000).

6.4. Propriétés pharmacologiques

Le genre *Salvia* est connue depuis l'antiquité , les sauges possèdent des propriétés médicinales :antiseptiques , antispasmodiques ,antisudorales , apéritives ,bactéricides, calmantes ,digestives ,énergétiques, laxatives ,fébrifuges ,toniques et stimulantes la mémoire .(chougui,2009).

Les fleurs et les feuilles, fraîches ou sèches de *Salvia officinalis* dite « la toute bonne » étaient les plus utilisées en infusions ou décoctions.(Christian,2008).

6.5. Domaine d'application et l'intérêt en phytothérapie

Salvia officinalis a été traditionnellement utilisée comme plante aromatique, condimentaire, dans des buts médicaux.Elle est connue depuis longtemps comme antisudorale, ce qu'elle doit à son huile essentielle qui paralyse les transmissions nerveuses des glandes sudoripares

.Cette essence est riche en une cétone terpénique, la thyone, convulsivante à haute dose , emménagogue et spasmolytiques à dose thérapeutique. (Bruneton.J., 1999). A cette action Salvia ajouterait des vertus œstrogènes qui permettent de combattre les bouffées de chaleur de la ménopause, et elle constitue un des éléments du schéma thérapeutique des affections de la prostate. Elle est un régulateur hormonal qui agit sur la sphère féminine en cas de trouble (Wikipédia ,2018). Elle contient de nombreux acides phénols tels que l'acide caféique,l'orogénique et rosmarinique , qui sont vraisemblablement responsable de son action cholérétique c'est à dire qu' elle augmente la sécrétion de la bile , spasmolytique ,relaxante sur les muscles de l'estomac et des intestins .Elle a aussi des vertus bactéricides liées à la présence d'un acide diterpénique .(azenmans et al ,1982).

6.6. Les principes actifs de la sauge (les composés phénoliques rapportés)

Polyphénols	Les flavonoïdes			
	Flavones	Flavonols	Flavanones	Flavone glycosides
4-Hydroxybenzoïque acide	5,7,40-	Quercétine	5,7,30-Trihydroxy-	Apigénine-7-
3-Methoxy-4-	Trihydroxyflavone		40-	glucoside
hydroxybenzoïque acide	(apigénine)		methoxyflavanone	(cosmosiine)
(acide vanillique)	-7-Methyl ether		(hesperétine)	Luteoline-7-
acide férulique	(genkwanine)			glucoside
acide rosmarinique	-7,40-Dimethyl			(cinaroside)
acide salvianolique	ether(acacétine)			-7-Glucuronide
cis-p-Coumarique acide 4-	5,7,3',4'-			
(2-apiosyl) glucoside	Tetrahydroxyflavone			
trans-p-Coumarique acide	(luteoline)			
4-(2-apiosyl)glucoside				
6-Feruloyl-a-glucose				
6-Feruloyl-b-glucose				
1-(2,3,4-Trihydroxy-3-				
methyl)butyl-6-				
feruloylglucoside				
6-Caffeoyl-1-fructosyl-a-				
glucoside				
1-Caffeoyl-6-				
apiosylglucoside				
1-p-Hydroxybenzoyl-6-				
apiosylglucoside				

Tableau 1: les composés phénoliques rapportés

6.7. Quelques propriétés thérapeutiques

Les feuilles de la sauge sont communément très connues, non seulement comme herbe condimentaire, mais aussi elles possèdent de nombreuses propriétés très exploitées en médecine vétérinaire.

6.7.1. Activité antioxydante

Les effets antioxydants de la sauge, ont été attribués essentiellement à l'acide rosmarinique et l'acide carnosolique (Bentaleb et al. ,2012). Cette activité est très appréciée comparée aux plantes ayant un fort pouvoir antioxydant telles que Ginkgo biloba et Panax ginseng (Fialova,2008).

Types d'antioxydants

Des systèmes de défenses permettent de prévenir la formation radicalaire et de limiter les lésions d'oxydations résultantes. Ces systèmes peuvent être endogènes ou exogènes, d'origine nutritionnelle.

6.7.1.1. Les antioxydants endogènes

Ce sont des enzymes ou protéines élaborés par notre organisme en présence de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge. (Mariam et al ., 2006).

6.7.1.2. Les antioxydants exogènes

Ils sont présents dans l'alimentation tels que : la vitamine A, C, E (2), les polyphénols en particulier les flavonoïdes et les cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes antioxydants endogènes. (Mariam et al .,2006).

Antioxydants	Protège contre :	Source
Vitamine C	Les maladies cardiovasculaires, les cataractes, et certains types de cancers	Agrumes, tomate, melon, kiwi, poivron, brocoli
Vitamine E	Les maladies cardiovasculaires, cancer de la prostate, ralenti la maladie d'Alzheimer.	Noix, graines, les huiles, fruits, et légumes
Les caroténoïdes	Les cancers du poumon, et maladies cardiovasculaires	Carotte, patate douce, courge, brocoli, chou frise, épinard, et les fruites : abricot, pêche.
Sélénium	Réduction de l'incidence des cancers de la prostate, du colon, et du poumon	Céréales complètes, noix, oignons, l'ail, volaille, viande rouge.
Les flavonoïdes	Cancers	Bleuet, cerise, canna berge, mure, cassis, prune raisins rouge.

Tableau 2:Les principaux antioxydants retrouvés dans les aliments

6.7.1.3. Mécanismes d'action des antioxydants

Un antioxydant peut agir de diverses manières (Burt, 2013) :

- Il peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même.
- Il peut absorber l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur.
- Il peut aussi agir par chélation avec des métaux ralentissant ainsi les réactions de fenton (formation de radicaux hydroxyles résultant de la réaction du fer avec le peroxyde d'hydrogène).

6.7.2. Activité antimicrobienne

Une étude (Zekri et al .,2013) a révélé des vertus bactéricides de *Salvia officinalis*, qui sont liées à la présence d'un acide diterpénique ; la salvine et son ester monométhylque. Cette activité a été confirmée par des tests microbiologiques sur des germes pathogènes tels que *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella enteridis* (Boughdad et al .,2011). Une activité antifongique est montrée contre *Aspergillus niger*. (Ikegami et al .,2006).

6.7.2.1.1. Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne

❖ L'aromatogramme

Il est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou méthode de disque ou méthode par diffusion sur milieu gélose .(Guerrin et Carret .,1999).

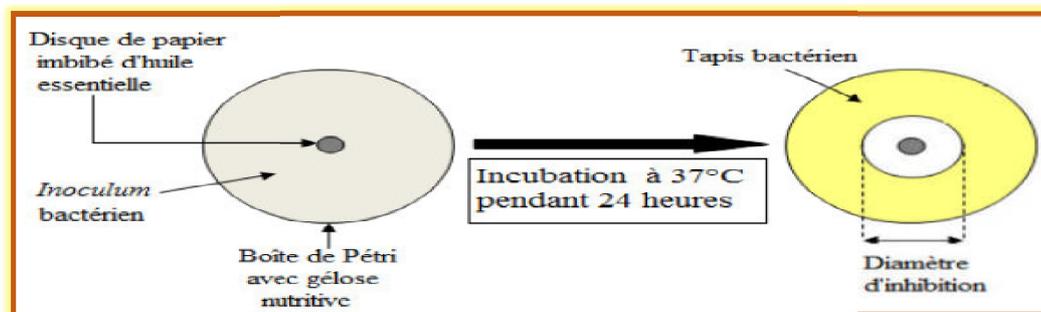


Figure 4: Principe de la méthode de diffusion par disque. (Guerrin et al. ,1983).

❖ Méthode de diffusion en puits

Elle assure une diffusion radiale des huiles essentielles ou substances à tester en donnant une zone d'inhibition claire parfaitement mesurable.(Eymard, 2003).

❖ Méthode de dilution

Les extraits de plantes à tester sont mélangés à des concentrations connues d'extraits avec le milieu de culture (Robert de Muet,1995).

❖ Méthode de micro atmosphère

C'est une technique qui nécessite un dépôt de disques imprégnés d'extraits à tester au centre du couvercle de la boîte de pétri puis renversés et mise en incubation. L'huile s'évapore dans l'atmosphère et peut exercer un effet inhibiteur sur les microorganismes. (Pibiri ,2005).

6.7.3. Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide

Elle est réalisée par repiquage des zones d'inhibition formées.(Nauciel ,2008).

- S'il ya croissance bactérienne, notre substance ou l'huile à tester a un effet bactériostatique sur la souche testée.
- S'il n'y a pas croissance bactérienne, notre substance a un effet bactéricide vis-à-vis de la souche.

Chapitre 2 :Antibiogrammes

1. Les antibiotiques

1.1. Chloramphénicol (50µg)

- Usage médical

Le chloramphénicol est un antibiotique de la famille des phénicolés. Il a été prescrit d'abord dans le traitement de la fièvre typhoïde. Le chloramphénicol est utilisé comme agent de seconde ligne dans le traitement du choléra lorsque la souche *Vibrio cholerae* résiste à la tétracycline.

Le chloramphénicol est une molécule qui franchit plus efficacement la barrière hémato-encéphalique que les céphalosporines. Dans les pays occidentaux, le chloramphénicol reste le médicament de choix dans le traitement de la méningite pour les patients atteints présentant une allergie sévère à la pénicilline ou aux céphalosporines. Il est recommandé aux médecins généralistes de disposer de chloramphénicol par voie intraveineuse dans leur sac.

Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique qui limite la synthèse des protéines en inhibant l'activité peptidyltransférase du ribosome bactérien. Le chloramphénicol et les macrolides ont les mêmes effets d'inhibition de la synthèse de peptides. (Le manuel MSD, 2018).

- Mécanisme de résistance

Il existe trois mécanismes de résistance au chloramphénicol : une réduction de la perméabilité membranaire de l'antibiotique, une mutation sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien ; et la présence d'une enzyme appelée chloramphénicol acétyltransférase.

Il a un effet toxique direct sur les mitochondries humaines et animales et peut provoquer des dysfonctionnements de la moelle osseuse au cours du traitement. Cet effet se manifeste d'abord par une chute du taux d'hémoglobine lorsque le patient reçoit une dose cumulative de 20 g. L'anémie est entièrement réversible une fois que le médicament est arrêté et ne prédit pas le développement futur de l'anémie aplasique. (Wikipédia, 2019).

1.2. PI : Acide Pipémidique (20µg)

L'acide pipémidique est un agent antibactérien de synthèse de la famille des quinolones. Il s'agit de l'acide pipérazino-2-oxo-5-éthyl-8-dihydro-5,8-pyrido (2,3-d) pyrimidine-6-carboxylique.

Elles tiennent compte à la fois des études cliniques auxquelles a donné lieu ce médicament et de sa place dans l'éventail des produits antibactériens actuellement disponibles. Elles sont limitées aux infections urinaires basses non compliquées, aiguës ou récidivantes de l'adulte, dues aux germes définis comme sensibles.

Il convient de tenir compte des recommandations officielles concernant l'utilisation appropriée des antibactériens.(doctissimo médicaments ,2018)

1.3. FA : Acide Fucidique (10µg)

L'acide fusidique est un antibiotique bactériostatique, inhibant la synthèse protéique de la bactérie. Il est avant tout un antibiotique anti staphylococcique qui doit être utilisé en association avec un autre antibiotique actif sur le staphylocoque.il possède une bonne pénétration tissulaire mais ne diffuse pas dans le LCR. Son métabolisme est principalement hépatique et il est éliminé à plus de 95% dans la bile.

Il agit par inhibition de la synthèse protéique de la bactérie en bloquant le ribosome par liaison au « facteur G », responsable de la translocation de la chaîne des peptides durant la synthèse des protéines.

L'acide fusidique est un antibiotique de structure stéroïdienne, bactériostatique à faible concentration, ayant un effet bactéricide à plus forte concentration. L'acide fusidique est indiqué dans le traitement des infections staphylococciques, quel qu'en soit le type, en dehors des infections urinaires et cérébro-méningées du fait de ses propriétés pharmacocinétiques.

La forme orale est utilisée dans le traitement des staphylococcies cutanées et ostéo articulaires.

Les formes locales sont utilisées dans le traitement des staphylococcies cutanées et l'éradication de gîtes cutanéomuqueux chez le porteur sain, et dans les infections externes de l'œil pour la forme ophtalmique.

- Il est contre-indiqué en cas d'insuffisance hépatique.
- L'administration d'acide fusidique est contre-indiquée en cas d'antécédent d'hypersensibilité au médicament.
- Du fait de l'immaturation des fonctions métaboliques, la fonction hépatique doit être surveillée chez le nouveau-né et le prématuré(pharmaco médicale.org.,2019)

2. Les souches bactériennes

2.1. *Staphylococcus aureus*

2.1.1. Caractères généraux

- Ce sont des coques Gram positif anaérobie facultative préférentielle, et se développe bien sur les milieux minimum (milieu de base) arrondis d'environ 1µm de diamètres, immobiles dépourvus de spores, ils possèdent une capsule polysaccharide.
- Ils apparaissent le plus souvent en amas dit « grappes de raisin » (figure 5). cependant ils peuvent également être isolés, par paires ou en très courte chaîne.
- Aspect des colonies : les *S. aureus* forment en aérobies des colonies crémeuses, pigmentées (typiquement jaune d'or), qui tournent autour de 4 mm de diamètre et opaques. - Catalase (+), oxydase (-), Arginine –dihydrolase (ADH) (+)
- Fermentation de nombreux hydrates de carbone : glucose, saccharose, glycérol, sont fermentés (+).(Charle ,1975).
- Présence d'une coagulase libre ou staphylocoagulase
- Dégrade le mannitol sur la gélose chapman
- Thermonucléase ou DNase thermostable .(Doctissimo santé, 2019)

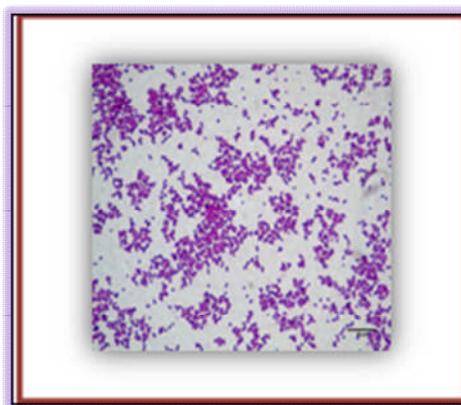


Figure 5: Aspect microscopique de *Staphylococcus aureus* (GX1000) ((Docplayer.2018)..

2.1.2. Habitat et rôle pathogène

Les staphylocoques sont des bactéries très répandues dans la nature aussi bien dans l'air que dans le sol ou dans l'eau. Ce sont des commensaux extrêmement fréquents de la peau et des cavités naturelles de l'homme et des animaux.

En pathologie humaine et animale leur rôles sont très variés.

Chez l'homme :

- Responsable de Septicémies : thrombo embolique ou vasculaires
- Atteintes intestinales d'origine alimentaire : toxiinfection d'évolution aiguë

Chez les animaux :

- Bovin : mammite, métrite, septicémie chez les jeunes
- Ovin et caprin : mammite gangréneuse, lymphadénie caséuse . (Doctissimo santé ,2019)

2.2. *Escherichia coli*

2.2.1. Caractères généraux

- Ce sont ceux des entérobactéries mobiles. Sont des bacilles Gram négatif, de 0,5 μ sur 3 μ en moyenne, généralement formes pseudo-filamenteuses .une coloration de type bipolaire est fréquente.
- Lactose (+), citrate Simmons (-), Indole(+), Urée (-), Gaz (+)
- La structure antigénique des colibacilles est complexe : ces bactéries comportent des antigènes majeurs :
- Antigène somatique (O) , ils sont particulièrement important ,car ils conditionnent le pouvoir pathogène des souches ;on a distingué jusqu'à présent 157 antigènes O différents ,allant de O1 jusqu'à O157, dans chaque espèce ,certains sérotypes sont plus particulièrement pathogènes .
- Antigène capsulaire ou d'enveloppe (K), inhibent l'agglutinabilité O lorsque ils présents .ils sont de nombre de 93 ,de K1 à K93.
- Antigène flagellaire (H), toujours monophasique, au nombre de 50.
- Antigènes mineurs : R, M.(Charle,1975)

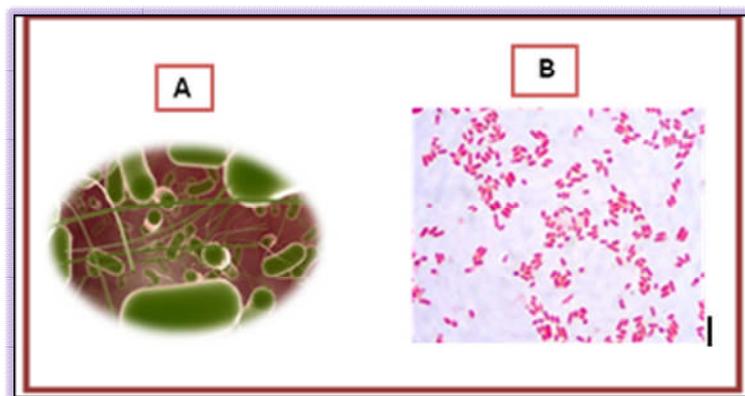


Figure 6: Aspect microscopique d'*Escherichia coli* (ME :A) et (MP : B) (Docplayer,2018).

2.2.2. Habitat et rôle pathologies

La souche *Escherichia coli* est considérée comme un hôte normal de la microflore bactérienne du tractus digestif de l'homme ainsi que de celle de nombreux animaux à sang chaud (figure 6). Il représente près de 80% de la microflore aérobie (Ghebru, 1988). *Escherichia coli*, et plus largement les coliformes thermo tolérants, sont recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale ; leur présence fournit ainsi une indication sur une éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries pathogènes d'origine digestive (e.g. *Salmonella thyphimurium*, *E. coli* O157:H7...). En outre, bien que la majorité des souches de *E. coli* soient commensales banales.(futura science, 2018).

Les infections à *E. coli* sont de deux types :

- Infections intestinales à type de diarrhée.
- Infections extra-intestinales. (francois.D et al 2007)

E. coli peut être pathogène :

- Chez l'homme : *E. coli* a un pouvoir très étendu ; on retrouve cette bactérie sur tous des affections génito-urinaire, et des syndromes digestifs.
- Chez les animaux : *E. coli* intervient très fréquemment chez diverses espèces :
 - ✓ Les bovins : colibacillose du veau, mammite colibacillaire, avortement.
 - ✓ Les volailles : maladie respiratoire chronique, coligranulomatose.
 - ✓ Le porc : entérite colibacillaire du porcelet nouveau-né, maladie de l'œdème (syndrome entéro colibacillaire de servage. (Charle,1975).

2.3. *Pseudomonas Aeruginosa*

2.3.1. Caractères généraux

- Sont des fin bacilles (0,5x3 μ) Gram négatif aérobies stricts, il possède des granulations plus fortement colorées. asporulé acapsulé ; son extrême mobilité est due à une ciliature polaire en général monotriche .
- C'est une bactérie très peu exigeante, qui se multiplie sur des milieux synthétiques simples avec comme source d'azote et de carbone de l'ammoniaque et du glucose.
- Elle pousse facilement en 2 heures à une température de 37°C et peut se développer à des températures variables (5 à 42 °C, l'optimum étant 30°C) mais supporte de moindres variations de pH (6,5 à 7,5, l'optimum étant 7,2).
- Sur la gélose apparaissent des colonies de quelques millimètres de diamètre, plates ou surélevées, opaques, à surface assez dépolie, limitées par un bord régulier ou finement dentelé prenant en vieillissant des reflets métalliques.
- Oxydase (+) , Nitrate (+)
- Il existe des antigènes O et H, qui permettent de distinguer différents types.
- Les antigènes O sont des glucido-lipido-protéiques .on connaît 16 types antigéniquement différents.
- *P.aeruginosa* peut posséder un antigène de surface, qui joue un rôle dans la virulence. (Bruneton,1999)

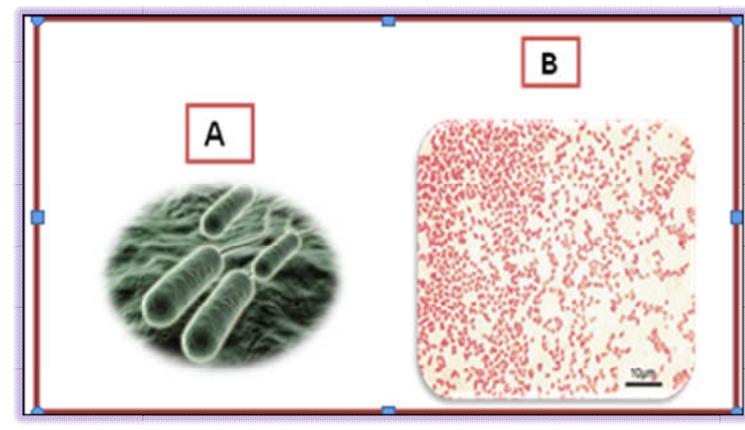


Figure 7: Aspect microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* au MEB (A) et *P. aeruginosa* au MP(Gx1000) (B)(Docplayer,2018).

2.3.2. Habitat et rôle pathogènes

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie saprophyte de l'air, de l'eau et de sol. Commensale des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux, elle possède un pouvoir pathogène étendu. Elle provoque généralement des septicémies primitives ou secondaires (Figure7) .c'est le germe de type des infections hospitalières et nosocomiales. (Avril, 200).

2.4. *Klebsiella pneumoniae*

2.4.1. Caractères généraux

- Les *Klebsiella* sont des bacilles à Gram négatif (coloration bipolaire fréquente), toujours immobiles, de dimensions comparables à celles d'*Escherichia coli* (0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6,0µm de longueur),(Figure 9) (Nauciel. 200). très souvent encapsulées. La culture sur milieu sucré, tel que le milieu hypersaccharosé de Worfel-Ferguson favorise la formation de capsules. Au contraire, l'évolution vers des formes non capsulées peut être obtenue par croissance en bouillon bilié à 50 % (Richard et Grimont, 1992).
- Les *klebsiella* sont des bactéries immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives, bêta-glucoronidase négative.
- Fermentant de nombreux sucres dont l'inositol. Réaction de Voges-Proskauer positive (VP+) et uréase + (Nauciel. 2000) + lentement (uréase moins active que celle des *Proteus*), ONPG +, β-xylosidase +, H₂S -, indole -, désaminase oxydative -, LDC +, ODC -, lipase, DNase et gélatinase -, KCN +, fermentant de nombreux substrats glucidiques avec production de gaz, utilisant le citrate de Simmons et le malonate.
- Les *Klebsiella* possèdent des antigènes O (somatiques), et K (capsulaires).

La recherche des antigènes O présente peu d'intérêt pratique, en raison de leur nombre réduit (13 antigènes O différents) et de la difficulté de leur détermination par suite du caractère thermostable des antigènes capsulaires K qui masquent l'agglutination O

La recherche des antigènes K est indispensable à toute enquête épidémiologique. Ils sont recherchés par agglutination sur lame ou en tubes, ou encore par la réaction de Neufeld dite du

« gonflement » de la capsule (opacification de la capsule résultant d'une réaction antigène-anticorps). (DocPlayer, 2018).

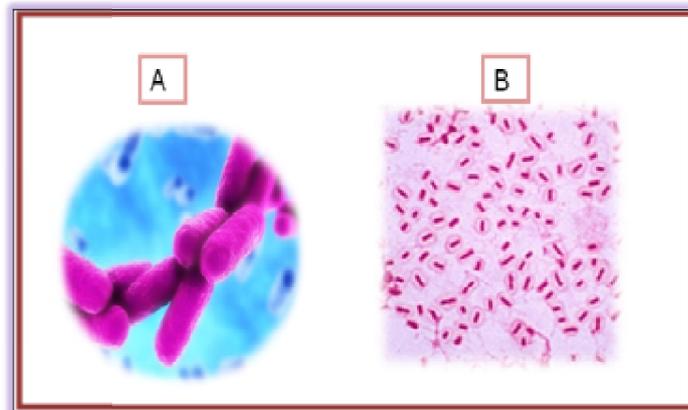


Figure 8: Observation de *Klebsiella pneumoniae* au MP après coloration de gram(B) et au MEB (A(Docplayer.2018)).

2.4.2. Habitat et rôle pathologiques

Ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des animaux et l'Homme en tant que bactéries commensales. Elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale. Elles sont abondantes dans le sol, les eaux et sont des fixateurs de l'azote atmosphérique.

Klebsiella pneumoniae détermine des infections respiratoires (pneumonies, abcès pulmonaires, pleurésies), des infections intestinales et urinaires.

Elle a un effet cytotoxique sur les épithéliums des voies aériennes et peut être responsable d'infections nosocomiales.

Son pouvoir pathogène et sa virulence seraient liés à plusieurs facteurs :

Sa capsule de polysaccharides ; Elle confère à *K. pneumoniae* un fort pouvoir invasif en protégeant les bactéries de la phagocytose et dans une certaine mesure de certains désinfectants.

une production de lipopolysaccharide (LPS) une production d'un complexe extracellulaire (toxique pour les tissus pulmonaires notamment).

Une production d'adhésine lui permettant de produire des biofilms. (DocPlayer, 2018).

2.5. *Citrobacter freundii*

2.5.1. Caractères généraux

- Les bactéries du genre *Citrobacter* sont des bacilles à Gram négatif anaérobies facultatives de la famille des Enterobacteriaceae mobile de 0,3 à 1 µm de diamètre et de 0,6 à 6 µm de long. Ces bactéries sont en forme de tige, d'une longueur typique de 1 à 5 µm (figure 1.15)(Nauciel,2000).
- Fermentation des sucres :glucose +,Réduction des nitrates en nitrites +
- Métabolisme du tryptophane en indole – ,H₂S gazeux + ,Urease – TDA- VP- (Médecine Sobronne Université ,2018).
- Fermentent le mannitol elles sont aussi capables d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone.
- Le genre peut être divisé en 43 sérogroupes O selon l'antigène O du lipopolysaccharide (LPS) et en 20 groupes selon la composition en sucres du LPS .(Nauciel,2000).

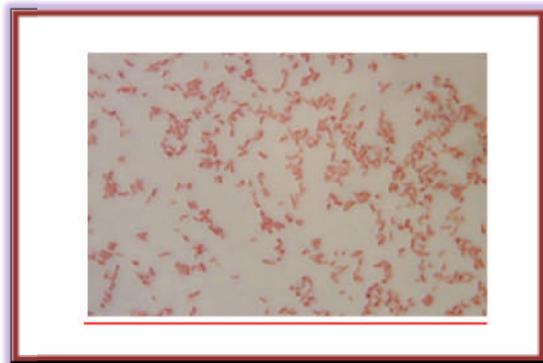


Figure 9: Observation de *Citrobacter freundii* au Microscope Photonique après coloration de Gram. (Gx400) (Docplayer.2018).

2.5.2. Habitat et rôle pathologiques

Les bactéries du genre *Citrobacter* peuvent être présentes dans l'eau, les égouts, les aliments et le tube digestif des humains et des animaux. Ces derniers constituent donc les hôtes de ces bactéries.

La souche *Citrobacter freundii* peut être responsable d'infections urinaires, d'infections de plaies ou encore de septicémie .germe fréquemment isolé en milieu hospitalier. (Trouvée chez

l'homme et chez certains animaux :mammifères, oiseaux, reptiles et amphibiens). (CISMEF ,2018).

2.6.Salmonella typhimurium

2.6.1. Caractères généraux

La souche *Salmonella typhimurium* est une bactérie à Gram négatif en forme de bâtonnet généralement mobile et pourvue de flagelles. Cette bactérie est une anaérobie ; facultative ; intracellulaire et appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Les germes ne sont pas détruits par le gel. Ils peuvent survivre pendant plusieurs semaines malgré un gel et dégel quotidiens. Salmonella survit bien à des températures normales intérieures (dans le poulailler) et extérieures. Elle est :

oxydase négatif , nitrate réductase positif, fermentative du glucose, lactose négatif , H₂S positif (ou négatif), uréase négatif , lysine décarboxylase positif, utilisant la voie des acides mixtes, indole négatif, ne possédant pas la bêta-galactosidase.

Caractérisée par :

-un antigène somatique O lipopolysaccharidiques (situés dans la paroi). Il en existe 67, on distingue l'antigène O majeur caractérisant un groupe de Salmonella et l'antigène O mineur qui est accessoire. La délétion par mutation de l'antigène O entraîne une perte partielle ou totale du pouvoir pathogène.

-un antigène flagellaire H. Ils sont présents sous deux formes différentes (phases). Soit sous les deux formes simultanément (diphase) soit sous la forme d'une seule phase (monophasique). Ces deux phases sont codées par deux gènes différents mais très voisins, ils doivent provenir de la duplication d'un même gène ancestral. (Eva,2013).

2.6.2. Habitat et rôle pathologiques

Les salmonelles sont des bactéries qui peuvent survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans l'eau. Elles se retrouvent donc fréquemment dans les milieux aquatiques pollués, la contamination par les excréments d'animaux porteurs étant très importante. Les vertébrés aquatiques, notamment les oiseaux (Anatidés) et les reptiles (Chéloniens) sont d'importants vecteurs de salmonelles. Les volailles, les bovins et les ovins étant des animaux fréquemment contaminants, les salmonelles peuvent se retrouver dans les aliments, notamment les viandes, le lait ou un œuf. Dans ce dernier cas, cela peut se produire si la coquille est fêlée ou si l'œuf a été lavé, le lavage cassant la barrière

protectrice située autour de l'œuf et permettant aux salmonelles d'entrer dans l'œuf.(wiképidia,2019).

2.7.. *Candida albicans*

2.7.1. Caractères généraux

- *Candida albicans* est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre candida .
- La culture en boîte de pétri de candida donne des colonies qui sont rondes, grandes, de couleur blanche ou crème (albicans signifie blanchâtre)
- Le test de germination positif, en effet *C .albicans* formera un hyphe sans constriction une fois placé dans du plasma de lapin à 37C°.
- Le test de chlamydospore sera positif sur milieu RAT dû à la présence de tween.
- Le test de l'uréase négatif sur milieu christensen.
- Colonie blanc crème, luisant et crémeuse sur gélose sang ou sabouraud. (Nauciel,200).

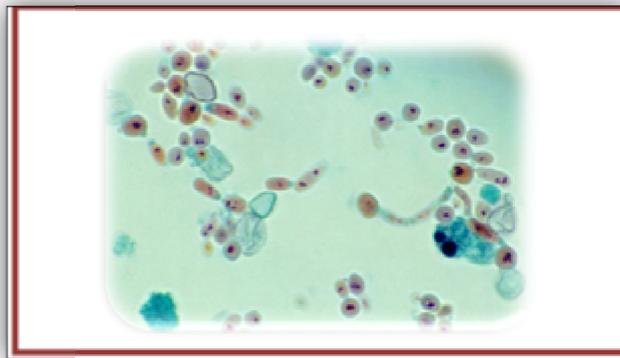


Figure 10: Aspect de *Candida albicans* au MP (G x 1000) (Docplayer.2018).

2.7.2. Habitat et rôle pathologiques

Candida albicans est un organisme vivant à l'état naturel dans les muqueuses de l'être humain .on le retrouve dans 80% de la population, et il n'entraîne habituellement aucune maladie ou symptôme en particulier .c'est un organisme commensal saprophyte.

Elle provoque des infections fongiques (candidiase ou candidose) essentiellement au niveau les muqueuses digestives .les candidioses sont une cause importante de mortalité chez les patients atteints du sida , les patients cancéreux sous chimiothérapie ou après transplantation de moelle osseuse .lorsque *Candida* s'infiltré dans le flux sang ,l'infection devient systémique

et on parle alors de candidémie .chez les nouveau-nés , une bronchopneumonie et , ou une pneumonie ,une vaginite ,une balanite ou être responsable d'infection profonde .(Qualité-sécurité-santé,2018).

Partie pratique

Matériel et Méthodes

1- Matériel biologique utilisé

1.1. Le lieu de récolte

La commune de Chréa est située au sud de la wilaya de Blida, sur les hauteurs de la ville de Blida, à environ 18 km au sud-est de Blida et à environ 64 km au sud-ouest d'Alger et à environ 26 km au nord-est de Médéa. La commune a une latitude: 36.4256, Longitude: 2.87 36° 25' 32" Nord, 2° 52' 36" Est. Une Superficie de 8 029 hectares. et une altitude 1927 m.

La plante *Salvia officinalis*. L a été récoltée deux fois, à la fin de septembre et le début de décembre 2018 dans la région de chréa, wilaya de Blida (le sud-ouest d'Alger).

Toute espèce végétale a des exigences vis-à-vis du climat au sein duquel elle évolue. Celles-ci se traduisent par un certain nombre de besoins climatiques, entre autres des besoins thermiques pour l'accomplissement de son développement et des besoins en eau pour sa croissance essentiellement.

La région de Chrea a un climat chaud et tempéré. La pluviométrie est hivernale, avec relativement peu de pluie en été. La carte climatique de Köppen-Geiger y classe le climat comme étant de type Csa. La température moyenne annuelle à Chrea est de 11.2 °C. Il tombe en moyenne 916 mm de pluie par an. (Climate-Data, 2018).

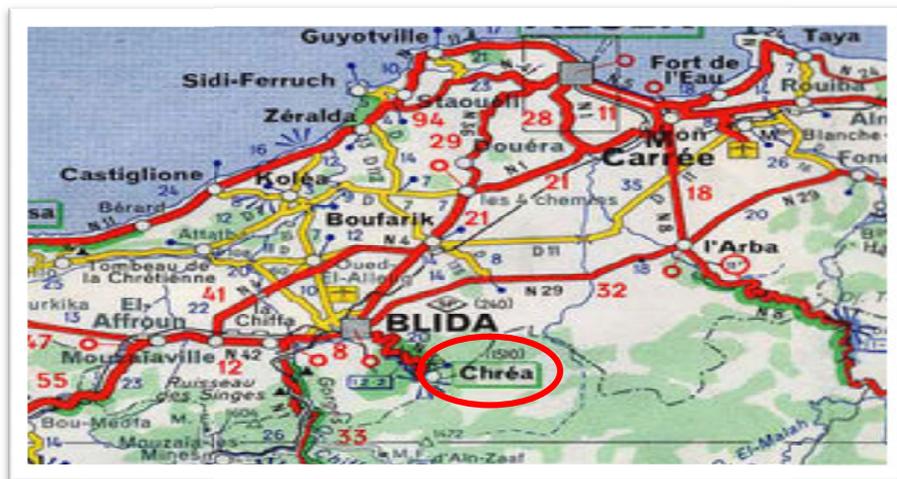


Figure 11: la situation géographique de chrea .Blida (Google earth.2019)

1.2. Séchage et broyage

Le matériel récolté est séché à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante dans un endroit aéré durant 15 jours. L'échantillon est finement broyé à l'aide d'un mixeur électrique, la poudre végétale obtenue est stockée dans des bocaux fermés

hermétiquement. Pour l'ensemble de notre expérimentation nous avons utilisé approximativement 1 Kg de matière végétale sèche (figure12)

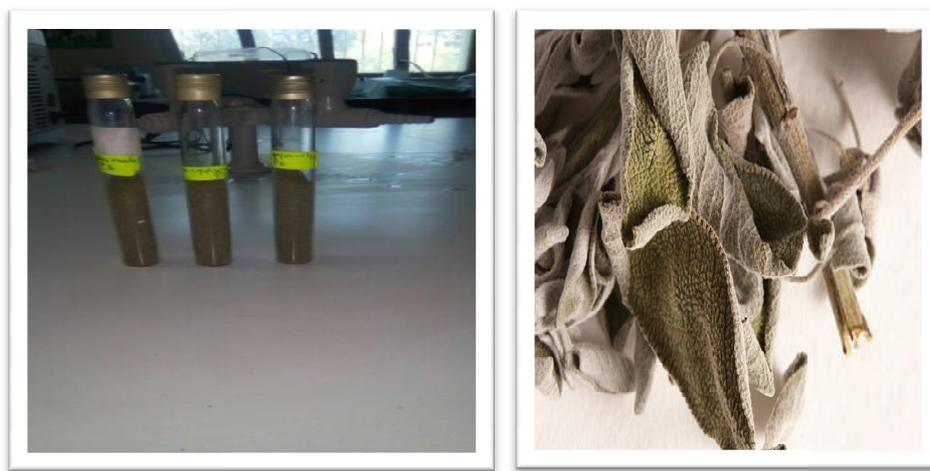


Figure 12: la plante sèche et sa poudre

Nous avons utilisé 6 souches bactériennes et une souche fongique, provenant toutes du laboratoire de bactériologie de l'Institut Pasteur d'Algérie.

Tableau 3: Souches bactériennes et la souche fongique utilisées

Le Gram	Les souches	N° ATCC
Bactérie Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	28923
Bactéries Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27859
	<i>Salmonella typhimurium</i>	4404540
	<i>Escherichia coli</i>	25922
	<i>Citrobacter freundii</i>	1554512
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	700603
Souche fongique	<i>Candida albicans</i>	1023

2. Méthodes

2.1. Identification botanique de la plante

L'identification de la plante s'est faite au niveau de deux laboratoires :

- Le laboratoire de biologie végétale , département de biologie.
- Le laboratoire de Botanique , département d'agronomie

2.2. Détermination de la teneur en eau

Le protocole adopté est celui de ZERRAD et *al.*, (2006)

❖ Plante fraîche

Les feuilles fraîches sont pesées (PF) puis séchées à l'étuve ventilée à 75 °C.

Elles sont ensuite pesées toutes les 24h jusqu'à l'obtention d'un poids constant (PS). La teneur en eau (T) est calculée comme suit(zerrad et al . ,2006).

% / g de poids frais

$$T = 100 \times (PF - PS) / PF$$

T : teneur en eau ou humidité

PF : poids frais en (g) avant dessiccation

PS : poids sec en (g) après dessiccation

La teneur en matière sèche (MS) est calculée selon la relation suivante :

$$MS(\%) = 100 - T$$

❖ Poudre sèche

Le taux d'humidité de la poudre (T) est calculé comme suit [121]:

$$T = 100 \times (PF - PS) / PF$$

2.3. Détermination de la teneur en cendres

La minéralisation à été réalisée selon le protocole de MARTIN et *al.*, (1984)

2.3.1 Principe : La technique consiste à l'incinération de la poudre végétale ou drogue jusqu'à l'obtention des cendres blanches.

2.3.2 Technique : Une prise d'essai P (1g) de feuilles séchées est introduite dans un four à moufle et calcinée au rouge entre 500 et 550⁰C pendant 6 heures jusqu'à la disparition totale de toutes les particules charbonneuses. Après 24 heures, la capsule est introduite dans un dessiccateur pendant 15 mn avant d'être pesée. La mesure obtenue est rapportée à 100g de plante sèche.

2.3.3 Expression des résultats :

La détermination du taux des cendres (T%) se fait différence de poids la formule suivante :

$$T(\%) = (P1/P) \times 100$$

Soit :

P1 : poids des cendres contenues dans la capsule

P: poids de la drogue prise essai

3.3.4 Etude des composés non volatiles :

La fraction non volatile (composés polaires et apolaires) a été extraite par technique de macération.

❖ Extraction par macération

Le protocole adopté est celui de [Bourgou. S , et al, 2016](#), avec quelques modifications

Dans cette partie, on extrait la poudre végétale par macération simple en choisissant le méthanol pure comme solvant de base. Les extraits sont préparés en ajoutant 10 ml du solvant d'extraction à 1 g de poudre végétale. Après une agitation pendant 30 minutes, le mélange est gardé au repos pendant 24 heures à 4°C. Les extraits obtenus sont filtrés à l'aide d'un papier Wattman N°4 (filtre sans cendre) .

Le macérât obtenu a été introduit dans un rota vapeur dans le but d' obtenir l' extrait pâteux (extrait méthanolique) qui va être conservé à 4° pour être utilisé dans les applications ultérieures.

2..3.4 .Activité antimicrobienne

Cette partie s'est basée sur l'étude de l'effet antibactérien et antifongique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Salvia officinalis* et de comparer avec les effets des antibiotiques sur quelque souche bactériennes.

- Les souches bactériennes

Les souches microbiennes référencées ATCC (American type culture collection), proviennent du laboratoire de bactériologie de l'institut Pasteur.

- Les Milieux de culture

le milieu Sabouraud pour les champignons

le milieu Mueller- Hinton pour les bactéries

Gélose nutritive pour revivification des souches

2.4 . Les extraits (extrait Méthanolique)

Extrait méthanolique de la partie aérienne (feuilles) de *Salvia officinalis* issue d'une extraction par macération.

2.5. Les antibiotiques

Pour réaliser le témoin positif on a utilisé des disques d'antibiotiques

Les disques d'antibiotiques (6mm de diamètres)	Les concentrations mcg (μg) 1mcg=1000mg
Chloramphénicol	30mcg (C30)
Acide Pipémidique	20mcg (PI20)
Acide Fucidique	10 mcg (FA 10)

Tableau 4: les disques d'antibiotiques

3.6. Etapes préliminaires :

3.6.1. Coulage des milieux de cultures :

Après stérilisation et refroidissement des milieux Préalablement mis en surfusion à 45°C, on coule les géloses dans des boites de pétri aseptiquement sous hotte à flux laminaire stérile.

Résultat et Discussion

1. Résultats de l'étude phytochimique

1.1. Détermination de la teneur en eau de la plante fraîche

Les végétaux sont riches en eau, cette importance est étroitement liée avec certains métabolismes de la plante. Les analyses de notre échantillon de feuilles de *Salvia officinalis*. L. révèlent un taux d'humidité de (tableau5). Ces résultats sont conformes à ceux signalés par la pharmacopée européenne

Poids frais en (g)	Teneur en eau (T) en (%)	Matière sèche (MS) en (%)
1.025	75.32 ± 0.0086	24.68

Tableau 5: Teneur en eau et matière sèche chez *Salvia officinalis*. L.

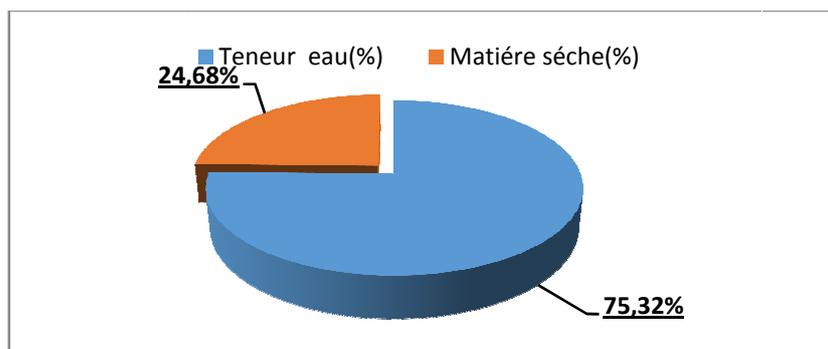


Figure 13: Taux d'humidité de *Salvia officinalis*. L

1.2. Taux d'humidité de la poudre sèche

La durée de séchage de chaque plante diffère d'une espèce à l'autre selon la quantité d'eau qu'elle contient. En effet, le temps de séchage est en relation proportionnelle avec la teneur en eau qui varie de 10 à 14 jours.

L'analyse de l'échantillon de poudre sèche des feuilles de *Salvia officinalis* L. Montre un taux d'humidité de 24.68%.

La comparaison de ces résultats avec les données de la littérature, montre que les teneurs en eau de *S. officinalis* sont différentes de celles trouvées par Munné-Bosch et Alegre (2003) qui sont de 66 et 58,9 %. De même, Achat (2005) a obtenue presque le même taux, qui est de 63,2%. Toutefois, le taux d'humidité est très influencé par certains facteurs, liés à la plante

et/ou aux conditions environnantes (Hopkins, 2003). la localisation géographiques de la plante, et la maturité des feuilles.

Ces résultats confèrent une richesse de notre plante en matière sèche par rapport aux autres résultats.

1.3. Détermination de la teneur des cendres

La teneur des cendres de *Salvia officinalis*. L. est de 35,55%. Elles sont de couleur claire à blanchâtres (tableau 6). Nos résultats sont conformes à ceux signalés par la pharmacopée européenne.

Prise d'essai (g) Plante fraîche	Poids des cendres Totale en (g)	Teneur des cendres en % de poids sec	Matière organique (%)
2,03	34,4938	35,55	64,45

Tableau 6: Teneur des cendres

2. Dosage de certains principes actifs de *Salvia officinalis* L

2.1. Composés non volatiles polaires et non polaires

Le rendement est de 12,20 % \pm 0.06 pour les substances non volatiles miscibles et non miscibles dans les solvants apolaires , pour les autres composés 87,80 % \pm 0.06.

Rendement en Polyphénols (%)	Autres composés (%)
12,20 \pm 0.06	87,80 \pm 0.06

Tableau 7: Pourcentages de la fraction polaire et apolaire des extraits méthanolique de *Salvia officinalis*. L

Ce résultat peut être comparé avec celui d'une étude similaire sur la même espèce réaliser par Pavela (2004) ont donné un rendement de 19, 28 % (m/m) pour l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis*. De même, Achat (2005) a trouvé un rendement de 25 % pour l'extraction au

méthanol. Par contre Menaker et al. (2004) ont déterminé un rendement très faible (1,32 % ; m/m) d'un extrait méthanolique de la même plante.

L'extraction des composés phénoliques polaires et apolaires est largement dépendante de la polarité des solvants, qui est due à la différence de polarité des principes actifs (Durling et al., 2006). Pour cela plusieurs combinaisons (alcool/eau) ont été réalisées, mais il n'y a pas de données publiées sur la composition du solvant type, qui extrait tous les composés polaires et apolaires simultanément (Baskan et al., 2007).

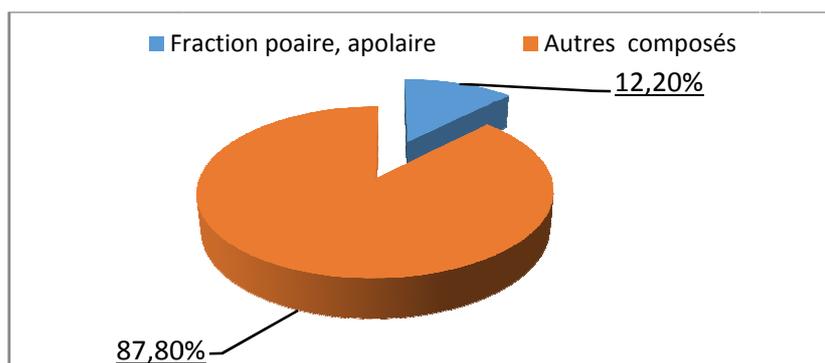


Figure 14: Pourcentages de la fraction polaire et apolaire de *Salvia officinalis*. L.

Concernant la sauge, une teneur de 22,6 mg/g MS de polyphénols totaux a été obtenue par Miliauskas et al. (2004), mg/g MS). D'autre part, Achat (2005) a obtenu une teneur de 54,77 mg équivalent catéchine/g MS de polyphénols totaux, cela est dû probablement aux différents standards utilisés. D'autres travaux menés par Baskan et al. (2007), sur la même espèce, ont donné 5,5 % (m/m) de polyphénols totaux. Dans notre cas ce pourcentage est d'environ 12,20% (m/m). Cette différence est due probablement à la taille des particules qui n'est pas la même et au solvant d'extraction utilisé.

3. Activité antimicrobienne

Lors de notre étude, nous avons testé l'effet de l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis*. L. vis-à-vis des souches microbiennes citées précédemment (tableau 4). Nous avons testé cette activité par la méthode de diffusion sur disques.

3.1. Sensibilité vis-à-vis des antibiotiques

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques. Nous avons testé trois antibiotiques : Chloramphénicol, 30µg et Acide Pipémidique, 20µg (PI), Acide Fucidique, 10µg (FA).

Les résultats des mesures des zones d'inhibitions figurent dans le tableau 8.

Souche bactériennes	Chlo DZI (mm)= (m±Et)	PI	FA
		DZI (mm)= (m±Et)	DZI (mm)= (m±Et)
<i>Staphylococcus aureus</i>	26.45±0.015	9.86 ±0.01	29.88±0.05
<i>Salmonella. Typhimurium</i>	26.93 ±0.015	22.1± 0.1	6.15 ±0.02
<i>Citrobacter. Freundii</i>	26.1± 0.1	23.85± 0.05	7.95 ±0.005
<i>Escherichia. Coli</i>	27.53 ± 0.01	23.7 ±0.17	7.96± 0.01
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	25.49 ± 0.34	17.13± 0.05	6.5±0.005
<i>Candida albicans</i>	6.1±0.1	7.45 ± 0.05	7.11 ± 0.09

Tableau 8: Résultats de l'antibiogramme (diamètres moyens des zones d'inhibitions ± écarts types en mm). CHL (Chloramphénicol 30µg), PI (acide Pipémidique 20µg), FA (Acide Fucidique 10µg).

D'après les diamètres d'inhibitions, on constate que la plupart des souches bactériennes ont montré une sensibilité vis-à-vis des 2 antibiotiques (PI et chloramphénicol) (figure).

Le chloramphénicol est actif sur *S. aureus* (26.45mm), *S. typhimurium* (26.93mm), *C. freundii* (26.1mm), *E. coli* (27.53mm), *K. Pneumonia* (25.49mm).

L'acide Pipémidique (PI) est très actif sur *S. typhimurium* (22.1mm), *C. freundii* (23.85mm), *E. coli* (23.7mm), moyennement actif sur *K. Pneumoniae* (17.13mm), et très faiblement actif sur *S. aureus* (9.86mm)

L'acide Fucidique (FA) a été fortement actif seulement sur une seule bactérie *Staphylococcus aureus* (29.88mm), et sans aucun effet vis-à-vis des autres bactéries étudiées ().

Concernant la levure *Candida albicans*, les (3) ATB n'ont présenté aucun effet sur cette dernière. Figure7.

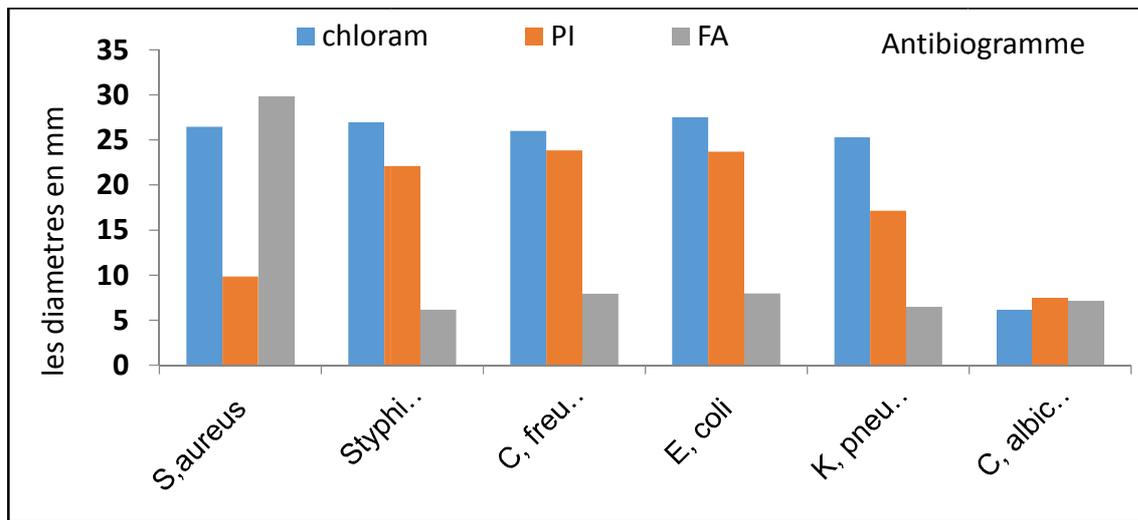


Figure 15: Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions des souches vis-à-vis des ATB.

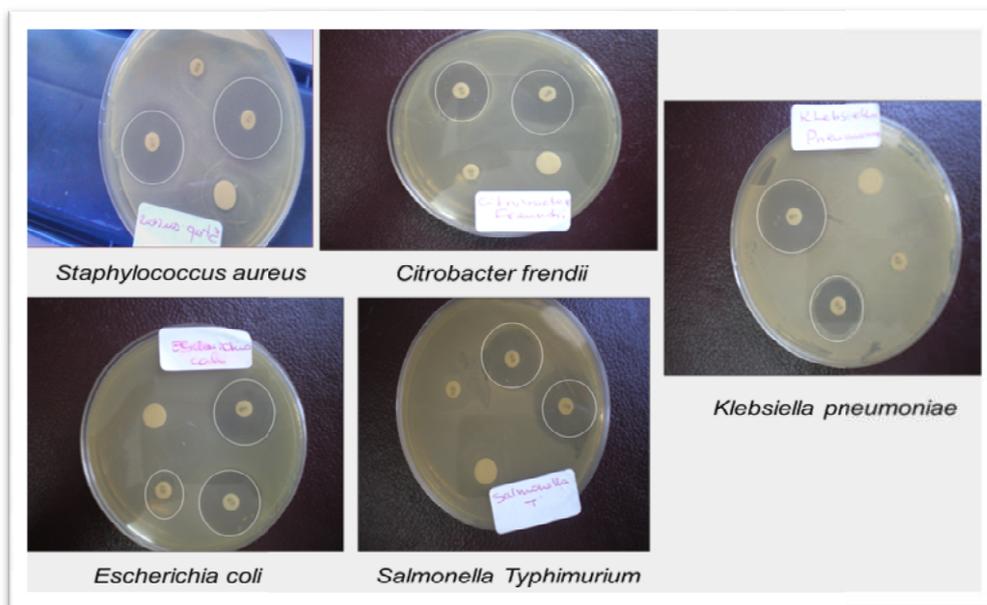


Figure 16: Effet des antibiotiques sur les souches bactériennes.

4. Sensibilité vis-à-vis de l'extrait méthanolique

Détermination de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits M-OH de *Salvia officinalis*. L par méthode de diffusion sur disques (aromatogramme)

L'aromatogramme est une méthode qualitative simple, appliquée à toute bactérie considérée comme pathogène. Les résultats sont rapportés dans le tableau (les diamètres des zones d'inhibitions des extraits M-OH de *Salvia officinalis*. L. relatifs aux souches microbiennes testées).

La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des extrait M-OH est classée selon leur diamètres et selon les critères suivants :

- Non sensible (—) pour un diamètre inférieur à 9mm.
- Sensible (+) pour un diamètre y compris entre 9-14 mm.
- Très sensible (++) pour des diamètres y compris entre 15-19 mm
- Extrêmement sensibles (++++) pour des diamètres supérieurs à 20mm. [175].

Tableau 9: Les résultats du degré de sensibilité des souches vis-à-vis des extraits M-OH

Les souches (ATCC)	Les diamètres (mm) ± E type Extrait méthanolique	Les diamètres (mm)± E type Témoin négatif (DMSO)
<i>Staphylococcus aureus</i>	15.16± 0.28	—
<i>Salmonella typhimurium</i>	25.16± 0.15	—
<i>Escherichia coli</i>	21.3± 0.26	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—
<i>Citrobacterfreundii</i>	19.23 ± 0.25	—
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	25.1± 0.1	—
<i>Candida albicans</i>	11.25± 0.25	—

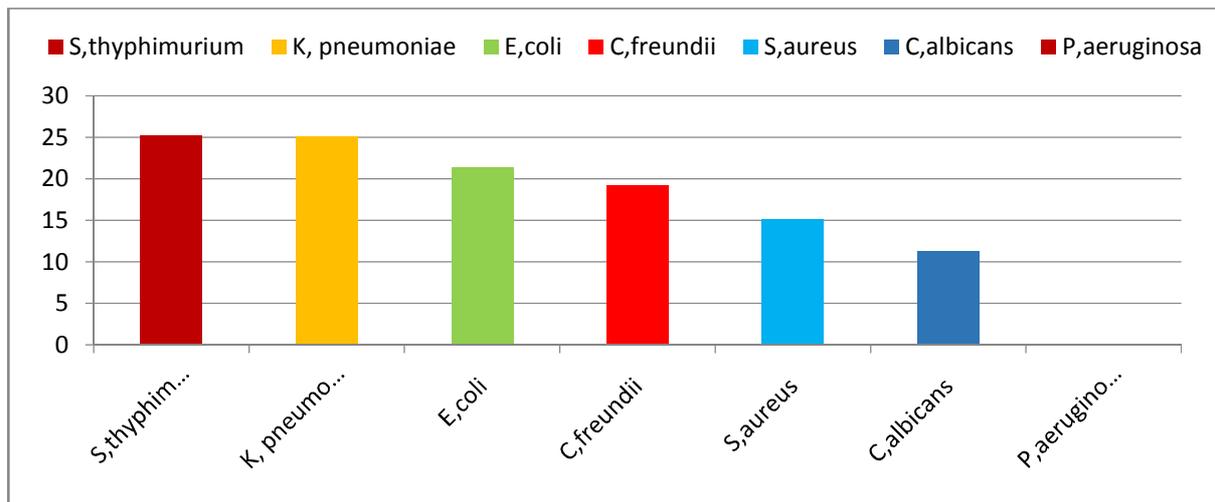


Figure 17: Effet de l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis*. L sur quelques souches microbiennes (DZI : diamètres des zones d'inhibitions en mm).

Discussion

L'activité antimicrobienne et l'efficacité antioxydante des extraits des végétaux sont les caractéristiques les plus étudiées pour leurs importances à préserver les aliments ainsi que pour le control des maladies d'origine bactériennes qui touchent l'homme et de l'animal (Bozin et al., 2007).

Le diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait étudié diffère d'une bactérie à une autre, cette variation de l'activité antimicrobienne de l'extrait vis-à-vis d'une même bactérie est due principalement à la variation de leurs compositions chimiques (Boudjouref, 2011 ; Ben Sassi et al., 2007 ; Naili et al., 2010).

D'après les résultats, globalement l'extrait méthanolique a un effet sur toutes les souches , bactériennes et fongique à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui présente une résistance vis-à-vis de notre extrait.

L'extrait méthanolique présente un grand effet inhibiteur vis-à-vis des trois souches :

S. typhimurium , *K. pneumoniae* et *E. coli*, avec des diamètres de 25.16, 25.1 et 21.3 mm respectivement .ces dernières semblent être très fortement sensible vis à vis de notre extrait méthanolique .

Concernant les deux souches *s. aureus* et *C. freudii* ,ces dernières sont très sensibles vis-à-vis de l'extrait de *salvia officinalis* avec des diamètres de : 15.16 et 19.23 mm respectivement .

Par ailleurs la souche fongique, *Candida albicans* , est sensible avec un diamètre de : 11.25 mm

La souche *Pseudomonas aeruginosa* semble être également très résistante à l'extrait méthanolique.

Une étude proche réalisée par Weckesser et al. (2007) montre que l'extrait d'alcool isopropyl de *Salvia officinalis* a exercé une forte activité vis-à-vis de *Coryne bacterium*, *Pseudo diphtericum* (avec une CMI de 10µg/ml), une activité moins forte vis-à-vis de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Corynebacterium amycolatum* (avec une CMI de 20µg/ml), une faible activité vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas maltophilia*, *Micrococcus luteus* (avec une CMI de 100µg/ml) par contre cet extrait n'a pas inhibé la croissance de *Candida albicans*, *Candida krusei*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*. Dans l'étude menée par Gulcin et al. (2004), les extraits acétoniques et de chloroforme de *Salvia sclarea* L. de la Turquie n'ont pas inhibé la croissance d'*Escherichia coli* et de *Listeria monocytogenes*. Par contre, l'efficacité a été notable vis-à-vis de *Bacillus megaterium*, *Bacillus brevis*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Mycobacterium smegmatis* mais sans atteindre celle de l'antibiotique (Streptomycine à 20mg/disque).

Enfin, l'activité antimicrobienne est dépendante des caractères physico-chimiques des composés phytobiotiques et des souches employées (Sari et al., 2006). Kalemba et Kunicka (2003) ont établi la corrélation entre la composition chimique et l'activité antimicrobienne, et ont classé les molécules chimiques selon leur importance du point de vue activités biologiques comme suit: phénols, alcools, aldéhydes, cétones, éther et hydrocarbures .

Compte tenu des résultats obtenus ,l'extrait méthanolique de *salvia officinalis* .L a eu un grand effet vis à vis des souches bactériennes et fongique utilisées, ,un effet qui semble être similaire en partie aux Antibiotiques utilisés dans notre étude , ceci pourrait être une bonne alternative naturelle pour minimiser l'emploi des antibiotiques synthétiques responsables des anti bio résistances .

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie à cause de la résistance à des antibiotiques. De nombreux chercheurs sont intéressés par les composés biologiquement actifs isolés à partir des différentes parties des plantes.

Ce travail a pour objectif l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de la sauge (*Salvia officinalis.L.*), une plante pérenne qui pousse en abondance à l'état sauvage dans le bassin méditerranéen, elle est fortement utilisée de nos jours, en médecine vétérinaire.

Dans notre étude, les extraits méthanolique de *Salvia officinalis* semblent présenter un intérêt réel et potentiel par leurs activités antimicrobiennes, établies *in vitro*.

La détermination des rendements de l'extrait méthanolique est de 12, 20 % considérés comme étant des rendements assez importants.

L'effet antibactérien des extraits est mis en évidence par la méthode de diffusion sur disques, en présence de six espèces bactériennes pathogènes : *klebseilla pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Salmonella typhimurium* et *Citrobacterfreundii*.

Les résultats obtenus montrent que MeOH de *Salvia officinalis* exerce un bon effet antimicrobien vis-à-vis des souches de références utilisées, en parallèle les antibiotiques utilisés ont également un effet qui se rapprochent de ceux trouvés pour l'extrait méthanolique.

Pour l'activité antifongique, l'effet de l'extrait méthanolique vis à vis de *Candida albicans*. Semble être très faible.

Ces résultats nous permettent d'affirmer que les extraits méthanolique de *Salvia officinalis* semblent être de bons antibiotiques naturels et peuvent être une bonne alternative dans la médecine vétérinaire.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active.

En perspective, il serait fort intéressant de compléter cette étude *in vitro* par une expérience *In vivo* et de s'en assurer de l'innocuité totale chez un modèle animal de choix, à même capable de vérifier d'autres propriétés biologiques telles que les autres activités

antioxydantes non testés, les activités insecticides, anti-inflammatoire, antidiabétiques in vitro.
Approfondir l'analyse d'efficacité thérapeutique des plantes médicinales surtout d'aspect antibactérienne .

Utiliser les principes actifs des plantes médicinales pour la fabrication des médicaments à base végétale.

Références Bibliographiques

- ❖ **Achat. S.,2005.** Etude des interactions protéines-polyphénols. Etude de cas *Salvia officinalis* avec la protéine sérumalbumine bovine. Mémoire de magister, 67p.
- Astania.A.,Reichling.J.,Schintzler.P.,2010. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytother Res.* 24, pp.673-679
- Avri.L., Dabernat. H., Denis. F., Monteil. H.,2000. Bactériologie clinique. 3^{ème} édition ellipses (Ed), Paris, 274 P
- babulka. P. ,2007 . La salviaofficinalis L. *Phytothérapie* 3, 114-117.
- 3 BACHELET. B. ,2013. Impact de la phytothérapie sur le système immunitaire. Thèse de doctorat vétérinaire. Créteil : Faculté de Médecine, 142 .
- 4 Bahorun. T.,1997, Substances Naturelles actives la flore Mauricienne ,une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritiass, 83-94p.
- 5 Bahorun .T., 2005. Substance naturelle active :la flore mauricienne , une source d’approvisionnement potentielle ;AMAS .food and agricultural researchconcil 4.110-130.
- 6 Baskan.S.,Oztekin. N.,Erim.B.,2007. Determination of carnosic acid and rosmarinic acids in sage by capillary elecrophoresis. *Food Chemistry*, 101, 1748 – 1752p.
- 7 Beloued.A.,2005, Plantes médicinales d’Algérie. 2Ed. Office des Publications Universitaires. Alger- Algerie, 284p.
- 8 Ben Khedher. M.,2017, Chemical composition and biological activities of salvia officinalis.L essential oil from Tunisia. *Excli Journal* ,16:160-173 – ISSN 1611-2156.
- 9 Bentaleb. A., Moudjahed. N., Ksouri. R., 2012.Secondary compounds characterisation in some autochthonous species from a North- eastern, region of Tunisia.
- 10 Ben Sassi. A.,Harzallah.S.Aouni1. M.,2007, Investigation of somemedicinal plants fromTunisia for antimicrobialactivities.*J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428p.
- 11 Boudjouref. M., 2011, Etude de l’activité antioxydante et antimicrobienne d’extraits d’*Artemisiacampestris*L.p51
- 12 Boughdad. R., El Kasimi.U., Kherchafi. U.,2011.« Activité insecticide des huiles essentielles de Mentha sur *Collobrochus maculatus*,*Coleoptera*, *Bruchidea* » AFPP- 9^{ème} conférence Internationale sur les ravageurs en Agriculture,300p.
- 13 Bourgaud. F., Gravot A. , Milesi S., Gontier. E .,2013. Production of plant secondary metabolites. a historical perspective. 2001. *Plant Science.* 161,839-851p.

- 14 *Bozin. B., Mimica.D.,Samojlik. I.,Jovin E.,2007, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae, Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.*, 55:7879–7885.
- 15 Bruneton. J., 1999, Pharmacognosie, 3eme Ed, Tec et Doc, Paris, 310- 316, 619-620.
- 16 Brusselle. M.,2017 , mise en place dammalleges en phytothérapie vétérinaire conséquences : probables sur la pratique de la phytothérapie en médecine vétérinaire . thèse de docteur vétérinaire. Université Claude-Bernard Lyon, 102p
- 17 Bruneton. J.,1999, Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.130p
- 18 Bruneton. J.,1999, Tannins. In: Pharmacognosie, phytochimie, Plantes Cannas A. http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/pos_effects.html - 6k.(10/10/2018)
- 19 Brown. P., 1875,a reprint of the long-lost classic, The Complete Herbalist. Newcastle Publishing , California,150-184p.
- 20 Burt. S.,2004. Essentials oils, their antibacterial properties and application in foods” a review, inst. J Food- Microbial, 94, (2004), pp 233-253
- 21 Charle ,P.,1975.bactériologie médicales et vétérinaire,1Ed.doin ,éditons ,pp37-42)
- 22 Chougui,R.,2009. étude du phytoconstituants phénolique de *Salviaofficinalis* L.et détermination du profil polyphénolique .
- 23 Christian,F.,2008.La Connaissance des Sauges de Christian Froissart, Edisud - ISBN ,320p.
- 24 CISMEF .,2018.catalogue et index des sites médicaux de langue française. <http://www.chu-rouen.fr/cismef/> (consulté le 17 décembre 2019).
- 25 Climate-Data .,2018.org / AM OP / OpenStreetMap contributors(consulté le 20novembre2018)
- 26 Dai .J., Mumper .R. 2010,Plant phenolics: Extraction, analysis and theirantioxidant and anticancerproperties. *Molecules*. 15: 7313-7352.
- 27 Davis.J., 1994, Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes, *Science*264, 375–382p.
- 28 Delille.L., 2007. Les plantes médicinales d’Algérie.1 ed.BERTI, edition , Alger,122 P.
- 29 Delphine. J.,2011. Pratiques de médecines alternatives en élevage bovin français, thèse Docteur vétérinaire,Universite Claude-Bernard, LYON I ,99p.
- 30 Doctissimo médicaments. 2018. [http:// www.doctissimo.fr/ asp/medicaments/medicaments - loupe.htm](http://www.doctissimo.fr/asp/medicaments/medicaments-loupe.htm)(consulté le 10 decembre2018).

- 31 Doctissimo santé 2019. <http://www.doctissimo.fr/sante/dictionnaire-medical/sepsis-a-staphylocoque> (consulté le 11fevrier 2019).
- 32 Docplayer.2018. www. AC- Orléans – Tours. fr/.../entérobactéries2 .jpg.
- 33 Duterte.M., 2011. Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l’île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin generalist. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences medicales, France, 210 p.
- 34 Doctissimo médicaments .2018 . <http://www.doctissimo.fr/principe-actif-11972-ACIDE-PIPEMIDIQUE.htm> (consulté le 25 novembre 2018).
- 35 Doctissimo médicaments 2019. http://www.doctissimo.fr/asp/medicaments/medicaments_loupe.htm/(consulté le 7/01/2019).
- 36 DocPlayer .2018.<https://docplayer.fr/5721721-Republique-algerienne-democratique-et-populaire-ministere-de-l-enseignement-superieur-et-de-la-recherche-scientifique.html>
- 37 Duling. E., Owen.J., Joh.B., Rosmaru. F., Kevin.A.,Yeap.L.,Nigel.B.,2007. Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (salvia officinalis)using ethanol-water mixture. *Food chemistry*, 101:1417-1424p.
- 38 Dutertre.J.,Marie.J.,2011.Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l’île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets innocuité et lien avec le médecin généraliste, Université Bordeaux 2 - Victor Segalen U.F.R Des Sciences Medicales,85p.
- 39 El-Hilaly.J., Hmammouchi.M., Lyoussi.B.,2003. Ethnobotanical, studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province ,Northern Morocco, *Journal of Ethnopharmacology* 86 ,149–158p.
- 40 Eva.P .,2013. Plan d’Action Salmonelles (PAS) Lutte contre les salmonelles zoonotiques chez les volailles .Version 2013.Ed .ARSIA.42.
- 41 Evans.W.,Trease.E.,1989. Pharmacognosy, 13th edition, BalliereTindall , ISBN ,500p.
- 42 Ewards.S.,2015.Phytopharmacy, an Evidence-Based Guide to Herbal Medicine Products. WileyBackwell, 400-420 p.
- 43 Eymard. S.,2003. Mise en évidence de l’oxydation des lipides au cours de la conversion et la transformation du chinchard (*Trachinus Trachinus*), choix des procédés . Thèse de doctorat en génie des procédés, spécialité Biochimie, Nantes, France,200P.

- 44 Fialova. S., Tekelova. D., Mirlianova. D., Gracai. D., 2008.The determination of phenolics compounds and antioxidant activity of Mints and Balms cultivated in Slovakia. Acta facultatis Pharmaceutics
- 45 Flora of China.2018. Salvia officinalis.http://www.efloras.org/florataxon.aspx.flora id = 2&taxon/id=200020236/(consulté le 20-11/2018).
- 46 Fluck.H.,Foulsham.C.,1988.Medicinal Plants,Ltd ,ISBN 0-572-00996-8.
- 47 Francois.D.,Marie.C.,Christian.M,edouard.B.,2007. bactériologie médicale, 2eme éd,duond,Paris, p337.
- 48 Futura science. 2018. <https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/vie-bacteries-genotoxiques-tube-digestif-9462/> (consulté le 14décembre 2018).
- 49 Haddouche.F., Benmansour. A.2009., Huiles essentielles et activités biologiques, application à deux plantes aromatiques, Article de synthèse, Journal, biotechnologie des laboratoires N° 8.
- 50 Haloran.K.,2001. Herbs, garden and gardening illnesses. Organic Gardening Emmaus, 48,1-16p.
- 51 HEIDARI.S.,2017. Phytotherapy of nephrotoxicity-induced by cancer drugs: an updated review. J Nephrothol., 6(3), pp. 254-63.
- 52 Hopkins.W.,2003.Physiologie végétale, 3ème Ed, boeck ,Universite rue des Minimes 39-B-1000 Bruxelles,138-139-267p.
- 53 Githiori.B.,Athanasaidou.S.,Thamsborg.S.,2006. Use of plants in novel approaches for gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. Veterinary Parasitology, . 308-320p.
- 54 Guerrin.T.,Carret. A,1999. L'antibiogramme, principes, méthodologie, intérêt, limites. Journées nationales, GTV- INRA, pp 5-12.
- 55 Gulcin. I., Uguz.M., Oktay. M., Beydemir.S.,Kufriyoglu.O.,2004. Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (Salvia sclarea L.). *Turk. J.Agric. For.*,28, 25-33p.
- 56 Ikegami. F., Sumino. M., Fudji.Y .,2006. Pharmacology and Toxicology of Bupleurum root-containing kompo medicines in clinical use » Hum. Exp.Toxicol. 25,pp481-494.
- 57 Iserin. P.,2001. Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation et soins, 3éd, Larousse,180-210p.
- 58 Iserin,P ., 2001.La rousse encyclopedie des plantes medicinale,p92,102,120,131.155.

- 59 Iserin.P., Masson. M., Restellini. P., Ybert. E., Zha. E., Vican. P.,deelesalle-Feat. T., Biaujeaud. M., Ringuet. J., Bloth. J., Botrel. A.,2001. Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong, 320-335p.
- 60 Iserin.P.,Masson.M.,Restellini,P.,2007.Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins , 2 éd, DorlingKindersiey Limited, Londres, Paris, France.
- 61 Jean.F., Morot.G.,Roger.P.,2012.Biologie végétale croissance et développement 2 éd. Duond,Paris,p337,
- 62 kothe.A.,2007.1000 plantes aromatiques et médicinales 2Ed .terre .Paris,300p
- 63 KELLY.G.,2010. Nutritional and botanical interventions to assist with the adaptation to stress, Altern Med Rev., 4(4), 249-65p.
- 64 Krief.S.,2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, muséum national d'histoire naturelle, thèse doctorat vétérinaire, Université de Paris , 100p.
- 65 Le manuel MSD.2018. <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/bact%C3%A9ries-et-m%C3%A9dicaments-antibact%C3%A9riens/chloramph%C3%A9nicol> (consulté le 11 novembre 2018).
- 66 Lhuillier. A.,2007. Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauriapolyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embeliaconcinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat vétérinaire,école de vétérinaire, Université de Toulouse,200p.
- 67 Maatoug.F.,1990. Nos plantes médicinales , Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie ,100p.
- 68 Macheix.J.,Fleuriet.A.,Sarni-Manchado.P.,2006. Composés phénoliques dans la plante-structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: Les polyphénols en agroalimentaire, 2Ed. Tec &Doc. Lavoisier110, 1-26p.
- 69 Mann.C., Markham. J., 1998., A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils,Journal of Applied Microbiology: 84,, pp 358-544.
- 70 Mariam.,Cheikh. T., 2006.Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. Mémoire de magister. Université de Bamako. 150p .
- 71 Martin.P., Gagnard. J., Gautier. P., Drouineau. G.,1984. L'analyse variétale de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales . Lavoisier, Paris, 400P
- 72 Menaker. A., Kravets.M., Koel. M.,Orav.A.,2004. Identification and characterization of supercritical fluid extracts from herbs. Preliminary Communication/Communication, 7, 629 -

633p.

- 73 Miliauskas.G.,Venskutonis.P.,Van Beek.T.,2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231 – 237p.
- 74 Mouille.T.,2014. Utilisation du Chardon-marie (*Silybummarianum*) dans les affections hépatiques chez les oiseaux et le furet : présentation de quelques cas cliniques.Thèse de doctorat vétérinaire. Créteil Faculté de Médecine Lyon, 153 p.
- 75 Munné-Bosch. S., Alegre. L.,2003. Drought-induced changes in the redox state of α -Tocopherol,Ascorbate, and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of labiatae species differing in carnosic acid contents1. *Plant Physiology*, 131, 1816 – 1825p.
- 76 Naili. M., Alghazeer.O.,Saleh.N.,Al-Najjar.A.,2010. Evaluation of antibacterial and antioxidant activites of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus Lotus* (Rhmncea), *Arab.J.Chem.*3:79-84p.
- 77 Naucie.C.2000. Bactériologie médicale. Masson 4ed,duon. Paris. 276 P.
- 78 Nelly.B.,2013. Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie, Université Toulouse Iii Paul Sabatier, Faculté Des Sciences Pharmaceutiques, 192p.
- 79 Paris .R.,Dillemann .G.,1960. *les plantes médicinales des régions arides*, Unesco, Prisse, Edition Oberthur, Rennes.
- 80 Pavela .R.,2004. Insecticidal activity of certain medicinal plants. *Fitoterapia*, 75, 745 – 749p.
- 81 Pharmaco médicale .collège national de pharmacologie médicale .2019. [https://pharmacomedicale.org/component/search/#\(consulté](https://pharmacomedicale.org/component/search/#(consulté) le 12janvier 2019)
- 82 Pibiri.M.,2005., Assainissement microbiologiques de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, polytechnique, Fédérale de Lausanne.210p
- 83 Pincemail. J .,2007. Effect of a diet rich in fruits and vegetables on the plasmatic antioxidant rates and of the markers of the oxidative damage; *Nutrition Clinique et métabolisme* 21 , 66–75p.
- 84 Pinto.E.,Palmeira.A.,Salgueiro.L.,Caveleiro.C.,Goncalves.M.,Pina-vag.C.,Rodrigue. A.,Oliveira.S., 2003. antifungal activity of oregano oils (*lppiagraveolens* and *origanumviriens* ,on dermatophyte species , *clin Microbial infc* , 222-230p.

- 85 Qualité-sécurité-santé .2019. <http://www.qualite-securite-soins.fr/se-documenter/sur-l-infectiologie-et-l-hygiene-hospitaliere/agents-infectieux/> (consulté le 14 avril 2019).
- 86 Raven.P.,Evert.F.,Eichhorn.S.,2000. Biologie végétale. 6eme Ed. De boeck. Paris, bruxelles. 39p.
- 87 Ribérrreau.P.,1968. Les composés phénoliques des végétaux, 3Ed,Dunod, Paris. p 254.
- 88 Robert de Muet. S.,1995. Méthodes de dilutions, et antibiogrammes., Montréal, Canada. pp 131-137
- 89 Scientific correspondance.2003.Broad Spectrum antimycotic drug for the treatment of ringworm infections in human beings .85(1) ,30-34
- 90 Spiridon.K .,2000. Sage, The Genus Salvia, Department of Plant Physiology ,Faculty of Agricultural Biotechnology, Agricultural University of Athens, Greece , 200p.
- 91 Stuart. M.,1986.,Encyclopaedia of Herbs and Herbalism, Orbis , ISBN, 700p.
- 92 Tharib.S., Veitch. G.,1983. Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia compestris* . J. Food, pro, 46., pp 681- 685.
- 93 Touet. C.,2015. Prise en charge de l'arthrose canine grâce à la phytothérapie - Observations cliniques chez le chien. Thèse de doctorat vétérinaire. Nantes, Faculté de Médecine Lyon, 188 p.
- 94 Vauzour.D.,Arnaudinaud.V., Krisa.S., Chèze.C.,Vercauteren.J., 2001. Étude de la voie biogénétique menant aux flavan-3-ols". 2ème Journée Scientifique de l'Université Victor Segalen Bordeaux 2.
- 95 Valnet.J.,1986. The Practice of Aromatherapy. C.W.Daniel Co. Ltd. 1986 ISBN,143p.
- 96 Wamine. 2018.,Site officiel de Wamine [en ligne], URL : <http://www.wamine.fr/> ,(consulté le 6 -11-2018).
- 97 [www. AC- Orléans – Tours. fr/.../entérobactéries2 .ipg](http://www.AC-Orléans-Tours.fr/.../entérobactéries2.ipg).
- 98 wikipédia .2018 . <https://www.gralon.net/articles/maison-et-jardin/jardin/article-la-sauge---une-plante-aromatique-et-decorative-6967.htm> (consulté le 4octobre 2018).
- 99 Wikipédia .2019.(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Chloramph%C3%A9nicol> (consulté le 11 janvier 2019).
- 100 wikipédia. 2019. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Salmonella> (consulté le 19janvier 2019).
- 101 Yano. Y., Satomi. M ., Oikawa. H.,2006. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*, International J Food Microbiology. 111,6-11p.

- 102 Zekri. N., Amalich. S., Boughdadm. A., Alaoui.T., Belghiti.T., Zair.,T.,2013. Phytochemical study and insecticidal activity of *Mentha pulegium* L. From Morocco against *Sitophilus oryzae*", Mediter. Journal of chemistry: 2 (4), pp 604-619.
- 103 Zerrad. W., Hillali.S., Mataoui. M., El antris.S., Hmeyen. A.,2006. Etude biochimique des mécanismes moléculaires des résistances au stress hydrique de deux variétés de blé dure. Laboratoire de Biochime, d'environnement, Maroc.

Annexes

Annexes A

A1. Liste des appareillages

- ❖ Balance de précision
- ❖ Plaque chauffante
- ❖ Chauffe ballon
- ❖ Bain marie
- ❖ Evaporateur rotatif
- ❖ Autoclave
- ❖ Etuve bactériologique
- ❖ Micropipette de 10 µl, 100 µl et 1000 µl.
- ❖ Spectrophotomètre UV

A2. Liste de la verrerie

- ❖ Bêchers (50ml, 100ml, 250ml)
- ❖ Erlenmeyer (100ml, 250ml)
- ❖ Ballon à fond plat rodé
- ❖ Pipettes pasteur, pipettes graduées stériles
- ❖ Pincettes, anses de platines, lames en verre, lamelles
- ❖ Ecouvillons et boîtes de pétri stériles
- ❖ Disques d'antibiotiques de 6mm de diamètre
- ❖ Spatule en inox
- ❖ Papier filtre Whatman
- ❖ Bec Bunsen
- ❖ Disques vierges de 9mm de diamètre.

A3. Milieux de cultures

- ❖ Gélose Mueller Hinton
- ❖ Gélose de Sabouraud.
- ❖ Gélose Nutritive
- ❖ Eau physiologique stériles

A4. Liste des solutions et réactifs utilisés

- ❖ Méthanol
- ❖ Eau de javel.

Annexes B



Figure B1 : Obtention de l'extrait M-OH par la Macération

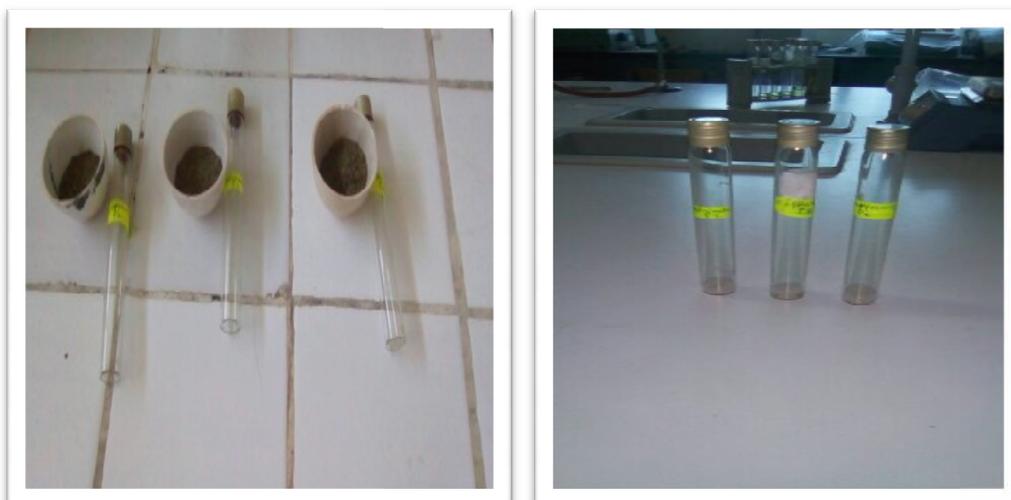


Figure B2 : La teneur en cendre



Figure B3 : Disques d'antibiotiques de 6mm de diamètre



Figure B4 : préparation l'activité antibactérienne