



République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique
Université de Blida 01
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biotechnologie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du
Diplôme de master académique en science de la nature et de la vie

Spécialité systèmes de production agro-écologique

Etude comparative du pouvoir antimicrobien
Des extraits du romarin (*Rosmarinus Officinalis L.*)
et de l'origan (*Origanum Floribundum*).

Présenté par : BRAZI IMENE
GACI SAMAH

Devant le jury composé de :

Mme BENREBIHA. F.Z	Professeur	USDB1	Présidente de jury
Mme MOUAS.Y	MCB	USDB1	Promotrice
Mme KEBOUR .D	MCA	USDB1	Examinatrice
Mme SAIDOUN .S	Doctorante	USDB1	Co-promotrice

Année universitaire 2018/2019

REMERCIEMENT

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice, MOUAS YAMINA, Pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce mémoire, nous la remercions pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et de nous avoir guidé durant la préparation de notre mémoire de Master. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles. Qu'elle trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre respect.

Nous remercions Madame BENREBIHA Professeur à l'université de Blida 1 et chef d'option système de production agro-écologique, D'avoir assurée la présidence du jury de notre soutenance.

Nous sommes également reconnaissants à Madame KEBOUR, professeur à l'université de Blida 1, pour avoir acceptée d'être membres de ce jury.

Nous tenons à exprimer toutes nos reconnaissances à Monsieur DJAMEL, pour l'accueil qu'il nous a accordée dans son laboratoire d'hygiène, pour sa générosité, sa gentillesse, son encouragement, son soutien et de nous avoir fait confiance tout au long de la préparation de ce travail, qu'il trouve ici toute notre gratitude et notre sympathie.

Un grand merci à Madame BEL KASIMI SARA, Chef d'unité au Parc National de Chréa à Hammam Melouane, pour son aide à faire l'échantillonnage.

Nous sommes très reconnaissants à ma cousine BRAZI RHYMA et à notre professeur Monsieur DEGAICHIA .H qui nous ont aidés à réaliser ce travail.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à toute personne Qui a participé de près ou de loin dans la réalisation de notre travail.

Merci à tous...

DEDICACES

Nous dédions ce modeste travail à nos parents en témoignage de notre profonde affection nous leur sommes reconnaissants pour leur soutien, amour et encouragements, leur fierté à notre égards serait la meilleure des récompenses.

A la mémoire de nos grands parents

A nos frères et belles-sœurs qu'on adore

A mon époux (Belkacemi Amine).

A toute nos familles, proches ou éloignées.

A nos cousins (es) (Rhyma, Amel, Fadhila, Nihel, Amina, Billel, Farah et Racha).

A nos amis (es) (Abir, souad, mouhamed, Safia).

Pendant toute la durée de nos études, tous ceux qui nous ont apportés aides et assistances que nous venons de citer plus haut et à qui ce dédicace est adressé, nous leur disons merci.

RESUME

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) et l'origan (*Origanum floribundum*) se sont des plantes médicinales spontanées. Afin de remplacer les produits synthétiques par des molécules bioactives qui sont à base de plantes, il est intéressant de connaître ses vertus thérapeutiques.

Notre travail consiste à préparer des extraits éthanoliques, méthanoliques et aqueux de la partie aérienne (feuilles) des deux espèces récoltées dans deux localités *Sidi El Kebir* et *Hammam Melouane* (Blida), et ce afin d'évaluer leur activité antimicrobienne vis-à-vis deux souches bactériennes: *E-coli* et *P. aeruginosa*.

L'aromatogramme a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien des extraits, vis-à-vis les souches bactériennes testées.

Les tests antimicrobiens des extraits à différentes concentrations 100%, 50% 20%, 10% ont montrés que :

- les souches bactériennes testées ont montré une sensibilité envers les extraits de l'origan et de romarin.
- Les extraits de l'origan ont présenté une activité antibactérienne plus importante que ceux du romarin.
- L'extrait de Romarin récolté dans la localité de Hammam Melouane a montré que les souches bactériennes sont extrêmement sensibles aux extraits comparés à ceux récoltés de la localité de Sidi El Kebir.

Mots clé : *Rosmarinus officinalis*, *Origanum Floribundum*, pouvoir antimicrobien, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, extraits.

ABSTRAT:

Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) and oregano (*Origanum floribundum*) are spontaneous medicinal plants. In order to replace synthetic products with bioactive molecules that are herbal, it is interesting to know its therapeutic virtues.

Our work consists of preparing ethanolic, methanolic and aqueous extracts of the aerial part (leaves) of the two species harvested in two localities Sidi El Kebir and Hammam Melouane (Blida), in order to evaluate their antimicrobial activity vis-à-vis two bacterial strains: *E-coli* and *P. aeruginosa*.

The aromatogram allowed highlighting the antimicrobial power of the extracts, vis-à-vis the bacterial strains tested.

Antimicrobial tests of extracts at different concentrations 100%, 50% 20%, 10% showed that:

- The bacterial strains tested showed sensitivity to extracts of oregano and rosemary.
- Extracts of oregano showed greater antibacterial activity than rosemary.
- The extract of Rosemary harvested in the locality of Hammam Melouane showed that the bacterial strains are extremely sensitive to the extracts compared to those harvested from the locality of Sidi El Kebir.

Key words: *Rosmarinus officinalis*, *Origanum Floribundum*, antimicrobial potency, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, extracts.

المخلص

روزماري (*Rosmarinus officinalis L.*) والأوريغانو (*Origanum floribundum*) نباتات طبية عفوية. من أجل استبدال المنتجات الاصطناعية بجزئيات نشطة حيويًا والتي هي عشبية، من المثير للاهتمام معرفة فوائدها العلاجية. يتكون عملنا من إعداد مقتطفات إيثانولية وميثانولية ومائية للجزء الجوي (الأوراق) من النوعين اللذين تم حصادهما في منطقتين ، سيدي الكبير وحمام ملواني (البلدية) ، من أجل تقييم نشاطهما المضاد للميكروبات في مقابل سلالتان جرثوميتان: *E-coli* و *P. aeruginosa*.

يسمح الشكل العطري بتسليط الضوء على قوة مضادات الميكروبات في المستخلصات، مقابل السلالات البكتيرية التي تم اختبارها.

أظهرت اختبارات مضادات الميكروبات للمستخلصات بتركيزات مختلفة 100% و 50% و 20% و 10% أن:

أظهرت السلالات البكتيرية التي تم اختبارها حساسية لمستخلصات الأوريغانو وإكليل الجبل.

• أظهرت مستخلصات الزعتر نشاطًا مضادًا للبكتيريا أكبر من إكليل الجبل.

• أظهرت خلاصة إكليل الجبل التي تم حصادها في منطقة حمام ملوان أن السلالات البكتيرية حساسة للغاية للمستخلصات مقارنة بتلك التي يتم حصادها من محلة سيدي الكبير.

الكلمات المفتاحية: *Rosmarinus officinalis* ، *Origanum Floribundum* ، فاعلية مضادات الميكروبات ، *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa*، مقتطفات.

TABLE DE MATIERES

Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre 1 : les plantes médicinales	4
1-1 Définition des plantes médicinales.....	4
1-2 La phytothérapie.....	4
1-3 Les principes actifs.....	5
1-3-1 Définition.....	5
1-3-2 Différents groupes de principes actifs.....	5
1-4 Mode d'emploi des plantes médicinales.....	8
1-4-1 La décoction.....	9
1-4-2 L'infusion.....	9
1-4-3 La macération.....	9
1-5 Domaine d'utilisation des plantes médicinales.....	10
1-5-1 Pharmacie.....	10
1-5-2 Cosmétologie.....	10
1-5-3 Les industries agroalimentaires.....	10
Chapitre 2 : La description de la plante	
2-1 L'origan.....	12
2-1-1 Etude botaniques de l' <i>Origanum floribundum</i>	12
2-1-2 Classification de l' <i>Origanum Floribundum</i>	13
2-1-3 Utilisation de l' <i>Origanum floribundum</i>	14
2-1-4 Compositions chimiques de l'origan.....	14
2-2 Le romarin.....	15
2-2-1 Classification de <i>Rosmarinus officinalis</i>	15

2-2-2 Etude botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	16
2-2-3 Utilisation de romarin.....	17
2-2-4 Composition chimique de romarin.....	18

Partie expérimentale

Chapitre 3 : Matériels et méthodes	
3-1 Matériel végétal.....	21
3-2 présentations de la région d'étude.....	22
3-2-1 la région de Blida.....	22
3-2-2 Le climat.....	23
3-3 Echantillonnage.....	23
3-4 Préparations du matériel végétal.....	24
3-5 Préparation des extraits.....	25
3-5-1 Extrait méthanolique et extraits éthanolique.....	25
3-5-2 Extrait aqueux.....	25
3-6 Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	26
3-7 Préparation des suspensions microbiennes (l'inoculum).....	27
3-8 Préparation de milieu de culture.....	28
3-9 Ensemencement.....	28
3-10 Dilutions des extraits EM et EE	29
3-11 Préparations des disques.....	29
3-12 Incubation et lecture.....	30

Chapitre 4 : Résultats et discussion

4-1 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de l'origan.....	32
4-1-1 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis : <i>E-coli</i>	32
4-1-2 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i>	33
4-2 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de romarin.....	34
4-2-1 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis : <i>E-coli</i>	34
4-2-2 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i>	35
4-3 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de RO-HM.....	36

4-3-1	Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis : <i>E-coli</i>	36
4-3-2	Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i>	37
4-4	Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux des deux plantes.....	38
4-5	Discussion.....	39
	Conclusion.....	41
	Référence bibliographique	
	Annexe	

LISTE DES TABLEAUX

T1	Généralités sur les souches bactériennes utilisées	27
T2	la présentation des contenus des tubes.....	29
T3	Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.....	31

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Aspect morphologique de l' <i>Origanum Floribundum</i>	13
Figure 2	Aspect morphologie du <i>Rosmarinus Officinalis L</i>	16
Figure 3	La poudre végétale.....	21
Figure 4	La plantule des deux espèces.....	22
Figure 5	Carte géographique de la région de Blida.....	22
Figure 6	Diagramme ombrothermique de Blida.....	23
Figure 7	La conservation du matériel végétal.....	24
Figure 8	Préparation des extraits.....	25
Figure 9	La technique d'aromatogramme.....	26
Figure 10	La coulé des boites de pétri.....	28
Figure 11	L'ensemencement des suspensions.....	29
Figure 12	Le dépôt des disques imbibé.....	30
Figure 13	Pouvoir antibactérien des extraits d'Origan vis-à-vis <i>E-coli</i>	32
Figure 14	pouvoir antimicrobien des extraits d'origan vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i> ..	33
Figure 15	Pouvoir antibactérien des extraits de <i>RO-O</i> vis-à-vis <i>E-coli</i>	34
Figure 16	Pouvoir antimicrobien des extraits <i>RO-O</i> vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i>	35
Figure 17	Pouvoir antibactérien des extraits de <i>RO-HM</i> vis-à-vis <i>E-coli</i>	36
Figure 18	Pouvoir antimicrobien des extraits <i>RO-HM</i> vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i> ...	37
Figure 19	Pouvoir antibactérien des extraits aqueux vis-à-vis <i>E-coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39

LISTE DES ABREVIATION

DMSO : Diméthylsulfoxyde

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

SK: Sidi El Kebir

HM: Hammam Melouane

RO-O: Rosmarinus Officinalis

RO-HM : Rosmarinus Officinalis de Hammam Melouane

HE : huile essentielle

M : La moyenne

ZI : Zone d'inhibition

EE : Extrait éthanolique

EM : Extrait méthanolique

EA : Extrait aqueux

INTRODUCTION

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisait les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**Sanago, 2006**). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public. Selon l'OMS (2003), environ 65 à 80% pourcent de la population mondiale a eu recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**Ma et al.,1997**).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (**Ameenah, 2006**).

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70 pourcent de nos médicaments, déjà environ 170000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Chaabi, 2008**).

Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien. Ainsi, les extraits végétaux commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives [(**Bruneton, 1999**) ; (**Teuscher et al.,2005**)].

L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané (**Quezel et Medail, 1995**). En Algérie la flore médicinale naturelle est relativement abondante et compte plus de 3000 espèces utilisées en médecine traditionnelle (**Abed, 1997**). Avec ses espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% sont endémiques, la flore reste peu exploitée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique (**Bouzid et al.,2017**).

Dans le but de valoriser les espèces spontanées médicinales connues pour leurs vertus thérapeutiques et dans le but d'élaborer de nouveaux produits bioactifs exploités par l'homme dans l'agro-alimentaire, l'industrie pharmaceutique et dans l'agriculture biologique comme bio-pesticide, nous nous sommes intéressés à deux espèces le romarin et l'origan.

Le romarin et l'origan sont des herbes stimulantes, à odeurs fortes et reconnaissables, qui ont une vertu antispasmodique et qui est prescrite, encore de nos jours, pour les bronchites. En médecine homéopathique traditionnelle, on l'utilise dans plusieurs diagnostics : asthme, palpitations, vomissements, grippe et fièvre. Les feuilles, les sommités fleuries et les extraits sont utilisées en phytothérapie **(Mouas., 2018)**.

La présente étude a pour objectif l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extrait des deux plantes médicinales ; *Origanum floribundum* et *Rosmarinus officinalis*. Notre travail se repartie en deux parties : la première partie est une synthèse bibliographique où nous apportons des généralités sur les plantes médicinales et les plantes à étudiées. La deuxième partie est la partie expérimentale qui est consacrée à l'extraction des extraits méthanoliques, éthanolique et aqueux à partir des feuilles de l'*Origanum floribundum* et *Rosmarinus officinalis* ainsi que l'étude de leur effet antimicrobien vis-à-vis *deux souches bactériennes* : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans ce contexte s'inscrit notre travail de recherche où nous nous sommes intéressés à l'étude de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des espèces étudiées récoltées dans deux localités : *Sidi El Kebir* et *Hammam Melouane* (Blida).

Partie bibliographique

Chapitre 1 : les plantes médicinales

1-1 Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles.

Le groupe consultatif de l'OMS qui a formulé cette définition affirme également qu'une telle description permet de distinguer les plantes médicinales dont les propriétés thérapeutiques et les composants ont été établis scientifiquement des plantes considérées comme médicinales. **(Abayomi, 2010)**.

1-2 Phytothérapie

C'est le traitement des maladies par les plantes, transformée depuis le XIX^{ème} siècle par l'emploi des extraits de plantes, puis par celui des substances actives isolées de celles-ci **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014)**. La phytothérapie contemporaine est devenue une véritable science.

L'exploration de la flore du globe étant loin d'être complète et de nouvelles découvertes étant faites chaque jours sur les propriétés de certaines plantes, l'étude des vertus médicinales des plantes connues ou inconnues nous réserve encore, assurément beaucoup de surprises.

On peut affirmer que non seulement la médecine par les plantes est une médecine d'aujourd'hui, mais qu'elle connaît même un regain d'actualité grâce aux progrès de la science.

Médecine lente, peut-être, mais peu à peu bienfaisante et toujours inoffensive, la médecine par les plantes ne devrait plus, dans notre monde actuel, être considérée comme une médecine en marge de la médecine officielle, mais devrait s'intégrer à celle-ci pour le plus grand bien du malade.

En apportant à la thérapeutique moderne sa précieuse et éternelle participation, cette médecine de premier âge redonne au monde un peu de cette

sagesse antique dont une civilisation outrancière nous a dépouillé(**Bekhachi et Abdelouahid, 2014**).

1-3 Les principes actifs

1-1-3 Définition

Le principe actif est une molécule contenue dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments(**Pelt,1980**). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal.,elle est issue de plantes fraîches ou desséchées, nous pouvons citer comme parties utilisées : les racines, écorces, sommité fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (**Benghanou, 2012**).

Les plantes contiennent des métabolites secondaires qui peuvent être considérées comme des substances indirectement essentielles à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (les UV, les insectes nocifs, variations de la température ...etc.) (**Sarni-Mnchadoet Vernonique, 2006**). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes.

1-2-3 Différents groupes des principes actifs

a) Polyphénols

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qu'on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimique poly hydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique a 6 carbones. Ils se subdivisent en sous-classe principales : Les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... (**Sarni-Manchado et Vernonique, 2006**).

b) Acide phénolique

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique (**Wichtel et Anton, 2009**).

c) Flavonoïdes

Terme en latin; flavus = jaune. Ont une structure de C6-C3-C6 à poids moléculaire faible, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (**Wichtl et Anton, 2009**).

Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés à contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, chacun portant une ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliées par un pont carboné (**Helleret Forkmann, 1993**).

Les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes (**Wichtl et Anton, 2009**). Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (**Iserin et al., 2001**).

d) Tanins

Tanin est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (**Hopkins, 2003**). On distingue deux catégories:

Les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines (**Hopkins, 2003**).

Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (**Hopkins, 2003**).

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (**Iserinet *al.*,2001**).

e) Lignines

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissu sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénolique de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (**Sarni-manchado et Vernonique, 2006**).

f) Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont soluble dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (**Wichtl et Anton, 2009**).

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine)(**Hopkins, 2003**). Des anticancéreuses (vincristine et la vinblastine) (**Iserin et *al.*,2001**).

g) Terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule (C₅H₈)ⁿ selon la variation de nombre n, dont les composés mono terpène, sesquiterpènes, di terpènes, tri terpène,... (**Wichtl et Anton, 2009**).

Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles; parfums et gout des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stéroïdes (cholestérol) **(Hopkins, 2003)**.

Les stéroïdes sont des tris terpènes tétra cycliques, possèdent moins de 30 atome de carbone, synthétisés à partir d'un tri terpène acyclique **(Hopkins, 2003)**.

Chez toutes les plantes on trouve ces composés liées avec un groupement alcool qu'ils nommés « les stéroïdes », prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme : B-Sitostérol, Stigmastérol **(Hopkins, 2003)**.

h) Saponosides

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycosylés comme ils peuvent aussi se trouver sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre **(Hopkins, 2003)**. Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes **(Iserin et al.,2001)**.

i) Les huiles essentielles

Chaque fois que, après avoir écrasé un pétale de fleur, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée.

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélange de substances aromatique produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air. **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014)**.

1-4 Mode d'emploi des plantes médicinales

Pour assurer l'action du médicament il est nécessaire de traiter la plante et de la transformer pour en tirer la substance ayant une action spécifique.

Etant donné la multiplicité des composants constituant les principes actifs de chaque plante et la spécificité d'action de chacun d'entre eux, il a été nécessaire d'élaborer des méthodologies diverses, qui permettent, selon le but recherché, leur extraction **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014)**.

1-4-1 La décoction

La décoction s'applique en générale aux racines, écorces, bois, rameaux, fruits.... **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014)**.

Le processus d'extraction par décoction consiste à faire bouillir, dans de l'eau une partie ou la totalité de la plante, pendant un temps déterminé (10 à 30 minutes), de la laisser ensuite macérée pendant un autre laps de temps et de procéder enfin au filtrage à l'aide d'un papier spéciale ou d'une toile a trame fine **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014)**.

1-4-2 L'infusion

L'infusion est la forme de préparation la plus simple ; on l'applique généralement aux organes délicats de la plante : fleurs, feuilles aromatiques, sommités... Cette forme permet d'assurer une diffusion optimale des substances volatiles : essences, résines, huiles **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014)**.

L'infusion s'obtient en versant de l'eau bouillante sur une quantité déterminée de plantes et en recouvrant aussi tôt le récipient, afin de provoquer la condensation des vapeurs riches en produits volatils **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014)**.

1-4-3 La macération

Les macérations concernent généralement les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur (par ébullition). Elles peuvent être définies comme des infusions froides de longues durées (de plusieurs jours). **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014)**.

Cette préparation s'obtient en mettant les plantes, en contact, à froid, avec un liquide comme du vin, de l'alcool, de l'eau, de l'huile.

1-5 Domaine d'utilisation des plantes médicinales

1-5-1 Pharmacie

Dans leur grande majorité, les plantes médicinales sont utilisées en nature, en particulier pour la préparation d'infusions et sous la forme de préparations galéniques simples. Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dont certaines peuvent avoir un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes) mais qui, majoritairement, sont surtout destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale. **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014).**

Les perspectives d'applications peuvent s'étendre à d'autres domaines comme, par exemple, la stomatologie, le traitement des affections bactériennes et fongique de la cavité buccale, les soins dentaires ou simplement pour l'hygiène dentaire sous forme de pâte dentifrice ou de pâte à mâcher **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014).**

1-5-2 Cosmétologie

L'industrie des cosmétiques et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier, pour les formulations de grande diffusion, les produits synthétiques. **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014).**

1-5-3 Industries agroalimentaires

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes utilisées dans l'assaisonnement des aliments a été reconnue depuis longtemps. C'est pour cela, que l'on pense de plus en plus à les utiliser dans la conservation des denrées alimentaires, sans pour autant en dénaturer le goût puisque ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires. C'est ainsi que l'on trouve le laurier dans certaines conserves et dans le miso qui est un met Japonais traditionnel. **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014).**

En effet, tous les secteurs alimentaires sont consommateurs : alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces,

soupes, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale. **(Bekhachi et Abdelouahid, 2014).**

Chapitre 2 : Description de la plante

2-1 L'Origan

Le genre *Origanum*, appartenant à la famille des Lamiacées, comporte 38 espèces qui sont largement répandues dans les régions euro-sibériennes et irano-sibérienne. Cependant, la plupart des espèces, environ 75 %, sont concentrées dans le pourtour méditerranéen, en particulier dans les régions méditerranéennes de l'Est **(Bekhech et al., 2008)**.

L'origan est souvent considéré comme une forme sauvage de la marjolaine, c'est l'ornement odorant des montagnes. Donc, le terme origan provient de deux mots grecs « oros » et « genos », c'est-à-dire « éclat des montagnes » **(Bekhech et al., 2008)**.

Cette plante est utilisée dans les préparations culinaires et considérée essentiellement comme une plante médicinale pour traiter les maladies sévères.

Elle jouit d'une grande faveur populaire en Algérie et en Tunisie comme remède contre la toux et les affections respiratoires. En effet, cette plante expectorante, stomachique, stimulante, tonique possède des propriétés antiseptiques, antispasmodiques et antitussives **(Bekhech et al., 2008)**.

Les espèces d'*Origanum* sont utilisées également comme des désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans les parfums **(Bekhech et al., 2008)**.

Origanum Floribundum **(Bekhech et al., 2008)**, qui pousse spontanément dans tout le nord de l'Afrique, en particulier dans les montagnes, à une altitude de 300 à 1 600 m, surtout dans les endroits rocheux **(Bekhech et al., 2008)**.

2-1-1 Etude botanique de l'*Origanum Floribundum*

Selon la taxonomie du genre *Origanum* effectuée par **(Ietswarrt, 1980)** l'*Origanum Floribundum* a été classé dans la section *Elongastipica*.

Cette espèce est rare et endémique au centre – nord de l'Algérie, et se caractérise par des feuilles tapissées par de nombreux poils épidermiques de couleur blanchâtre.

On peut aussi observer des formations de couleur jaune. Elle représente les sites sécréteurs : **les trichomes**.

La tige présente des poils épidermiques pluricellulaires et des sites sécréteurs les trichomes.

Les sépales et les pétales de la fleur sont tapissés deux poils épidermiques tecteurs et deux trichome. La même observation est faite pour le fruit.



[fr.wikipedia.org]

Figure 1 : Aspect morphologique de l'*Origanum Floribundum*.

2-1-2 Classification de l'*Origanum Floribundum*

Règne : plantae

Sous règne : tracheobionta

Division : magnoliophuta

Classe : magnoliopsida

Sous classe : asteridae

Ordre : lamiales

Famille : lamiaceae

Genre : *Origanum*

Espèce : *Origanum Floribundum*(CPG le 22 février 2016)

2-1-3Utilisation de l'*Origanum Floribundum*

a) Voie interne

Comme la plupart des labiées, l'espèce possède des vertus stomachique, tonique, calmante, diurétique, sudorifique et expectorante. On emploie ses sommités fleuries. L'infusion calmante et somnifère.

L'origan a une odeur pénétrante et agréable à saveur chaude et aromatique on l'indique également contre la faiblesse des organes digestifs, les crampes d'estomac, les coliques, l'atonie utérine de nature nerveuse ou musculaire(**Beloued, 2014**).

b) Voie externe

L'extrait de l'espèce est utilisé en gargarisme dans les maladies de la bouche, en lotion de la muqueuse nasale ou en tampons dans les narines contre le rhume des foies. Le suc frais des feuilles est utilisé contre les maux de tête persistants. L'HE est employé contre la paralysie décroissante, en friction sur la nuque, le dos, douleurs et dureté de l'oreille et en massage contre les douleurs rhumatismales(**Beloued, 2014**).

2-1-4Composition chimique de l'origan

Les origans sont riches en carvacrol et thymol .**Selon Guy, (2011)** 3terpènes oxygénés sont présents de façon systématique : 1,8- cinéole, linalol, bornéol.

Puis , on peut rencontrer des terpènes comme α -thujène , α -pinène, β -pinène , myrcène, camphène , δ -3-carène , α -phellandrène , α -yerpène , γ -terpinène ,

limonène , cis et trans-ocimènes , terpinolène et p-cymène , ce dernier étant souvent le plus abondant (entre 1 et 13 %)(Guy,2011).

2-2LeRomarin

Le nom latin *Rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé "ras" de la rosée et "marinus" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer. On a affirmé que cette interprétation est un produit d'étymologie traditionnelle, mais probablement le nom original est dérivé du grec "'rhops" arbuste et "myron" baume (Heinrich et al.,2006).

Le romarin est spontané dans les régions méditerranéennes où il croît dans les terrains calcaires, les lieux secs et arides du Midi, surtout au voisinage du littoral.,en Corse ; dans tout le Bassin méditerranéen, où il fleurit toute l'année. Il est souvent cultivé etsubspontané (Bruneton, 2009).

Les feuilles sont persistantes, coriaces, sessiles, opposées, linéaires, entières, enroulées par les bords, vertes et chagrinées à la face supérieure, blanches-tomenteuses à la face inférieure (Bruneton, 2009).

Comme toutes les plantes aromatiques et médicinales, contient des composés chimiques ayant des propriétés antimicrobiennes. L'utilisation de ces molécules à base de plantes peut présenter de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèse actuels.

2-2-1Classification du romarin

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta

Sous-embranchement : Magnoliophytina

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus Officinalis* L. (CPG le 22 février 2016)

2-2-2 Etude botanique du romarin

Le genre *Rosmarinus* regroupe deux espèces de plantes de la famille des Lamiacées originaires du bassin méditerranéen le *Rosmarinus Eriocalyx* et le *Rosmarinus Officinalis* L. **(Besombes, 2008).**

Ses caractères sont les suivants : (figure 2)

Arbrisseau touffu de 50 cm à 1,5 mètre de haut et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux et très feuillé ; inflorescence spiciforme, à fleurs subsessiles, qui s'épanouissent toute l'année.

Les fleurs, bilabiées, sont d'un bleu pâle ou blanchâtre maculées de taches violettes, rapprochées en petites grappes axillaires et terminales, le calice en cloche est bilabié **(Bruneton, 2009).**



[fr.wikipedia.org]

Figure 2 : Aspect morphologie du *Rosmarinus Officinalis* L.

2-2-3 Utilisation de Romarin

a) Agriculture

Les hautes plaines steppiques connaissent aujourd'hui une forte dégradation qui se traduit par la réduction du potentiel biologique et la rupture des équilibres écologiques et socio-économiques. Afin de préserver et d'améliorer les sols de ces régions, la valorisation des espèces spontanées (fourragères et médicinales) connues pour leurs tolérances à la sécheresse et à la salinité telle que le romarin, s'avère indispensable.

Le romarin préfère les sols argilo-calcaires, de pH 7 à 8. Poussant naturellement dans la garrigue, le romarin peut valoriser des terrains pauvres, il se développe mieux en terrain profond, léger et perméable (**Quezel et Medail, 1995**).

b) Phytothérapie

Voie externe

L'extrait alcoolique qui contient des sommités du romarin est utilisé pour le traitement des entorses, foulures, contusions et torticolis. La décoction aqueuse s'utilise en gargarismes (angines) et bains de bouche (aphtes), ou elle est ajoutée à des bains stimulants. L'huile essentielle de romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la concentration pour une bonne mémoire, combat les effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL (**Dias et al.,2000**), alors que l'huile essentielle du romarin a une action sur la pousse des cheveux en stimulant l'irrigation du cuir chevelu par une simple application sur la tête (**Iserin et al.,2001**).

Voie interne

Le romarin est un stimulant, antispasmodique, cholagogue. On l'indique pour ses qualités stimulantes dans les dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, les états adynamiques des fièvres typhoïdes ou muqueuses et de la grippe.

Iserin et al. (2001) remarquent que les propriétés hypertensives du romarin, ont permis d'utiliser la plante en cas d'évanouissements liés à une insuffisance circulatoire et ils ajoutent que la plante pourrait être considérée comme un fortifiant

qui accélère la convalescence à la suite de maladies chroniques ou de stress prolongés.

c) Industrie alimentaire

Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments. Le romarin est utilisé comme alternative aux additifs chimiques pour la préparation de la volaille, de l'agneau, du veau, des fruits de mer, des saucisses et salades ainsi que des soupes et chapelures. Il est également utilisé comme épice dans les croustilles et les chips **(Bousbia., 2011)**.

d) Industrie de parfumerie

La faculté des extraits de romarin a protégé la peau des lésions cutanées induites par les radicaux libres. Ils ont montré la validité réelle de la biotechnologie des antioxydants naturels dans la gestion de l'antivieillessement de la peau **(Bousbia, 2011)**. L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants **[Arnold (1997) ; Cuvelier et al. (1996)]**.

2-3-4 Composition chimique du romarin

C'est une herbe à 1,8 – cinéole comme le laurier (avec lequel il compose le « bouquet » pour la cuisine).

Selon Munoz, la feuille contient des dérivés polyphénolique, des flavones comme l'apigénine et la lutéoline, un alcaloïde la rosmaricina, et 2 à 4 % d'acide urolique et d'autre dérivés triterpéniques, des tanins. L'H contient des dérivés triterpéniques :

1,8-cinéol 32 %, bornéol 18%, acétate de bornyle et camphre 12%.

Selon Richard et al. (1987), on observe α -pinène, 1,8-cinéol (20 à 45%), du camphre (10 à 20%), mais ni thymol ni carvacrol **(Guy, 2011)**.

Selon Granger et Passet (1973), il existe des variations d'origine géographique mais non dues à l'écologie. La variation saisonnière est faible. Par contre les variations d'individus sont importantes : on obtient un cocktail du gîte sauvage, une résultante type qui se répète chaque année **(Guy, 2011)**.

Aussi, on distingue 3 chimiotypes :

- A dominance en eucalyptol
- En camphre-boréol
- En α -pinène, verbénone : Corse, Baléares

Comme on peut trouver, sur les côtes atlantiques espagnoles et portugaises, un type à myrcène.

Dans les huiles commerciales « à cause du mode de distillation », on trouve des traces de verbénone. Hartman et al. (1980) mettent en évidence l'action antioxydante de l'acide rosmarinique (**Guy, 2011**).

Partie expérimentale

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

3-1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail est composé des parties aériennes du romarin (*R. Offisialis L.*) et l'origan (*O. Floribundum*) spontanées, récolté dans deux régions HM et SK de la wilaya de Blida, durant la campagne 2018-2019

L'identification des deux espèces a été faite au niveau du parc national de chréa. (Site de récolte). (Figure 3).



(Photo personnel ,2019)

Figure 3 : la poudrevégétale

la récolte du matériel végétal des deux espèces a été faite au niveau du parc national de chréa secteur Hammam Melouane. Une autre récolte du matériel végétal du romarin à été faite à Sidi El Kebir.(figure 4)



(Photo personnel ,2019)

Figure 4 : la récolte des deux espèces

3-2 présentation de la région d'étude

3-2-1 la région de Blida

La wilaya de Blida se situe au nord de l'Algérie. Elle comporte principalement une importante plaine : la Mitidja, zone agricole riche ; et d'une chaîne de montagnes au Sud : l'Atlas Blidien, qui constitue une partie de centrale de l'atlas Tellien (figure 5).

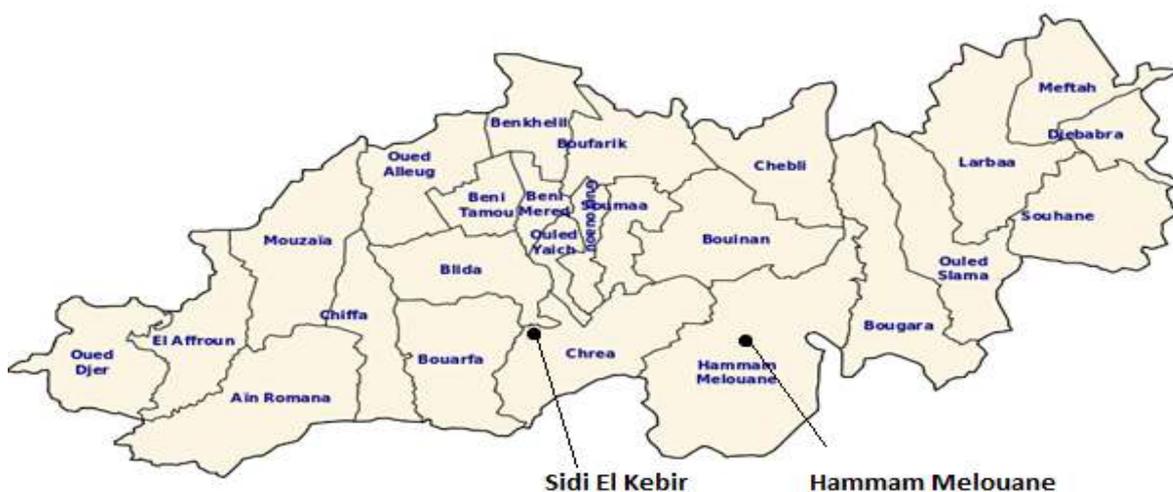


Figure 5 : Carte géographique de la région de Blida

3-2-2Le climat

La région de Blida se caractérise par un climat chaud et tempéré. En été, les pluies sont moins importantes qu'elles ne le sont en hiver. La température moyenne annuelle à Blida est de 17.9 °C, les précipitations sont en moyenne de 791 mm (**anonyme 1**)

Diagramme Ombrothermique de Blida

L'examen du diagramme ombrothermique de la décennie 2005/2015 de la région de Blida révèle l'existence de deux périodes (sèche et humide). La période sèche s'étale du mois de mai jusqu'à la 1ère quinzaine du mois de Septembre. (Figure 6).

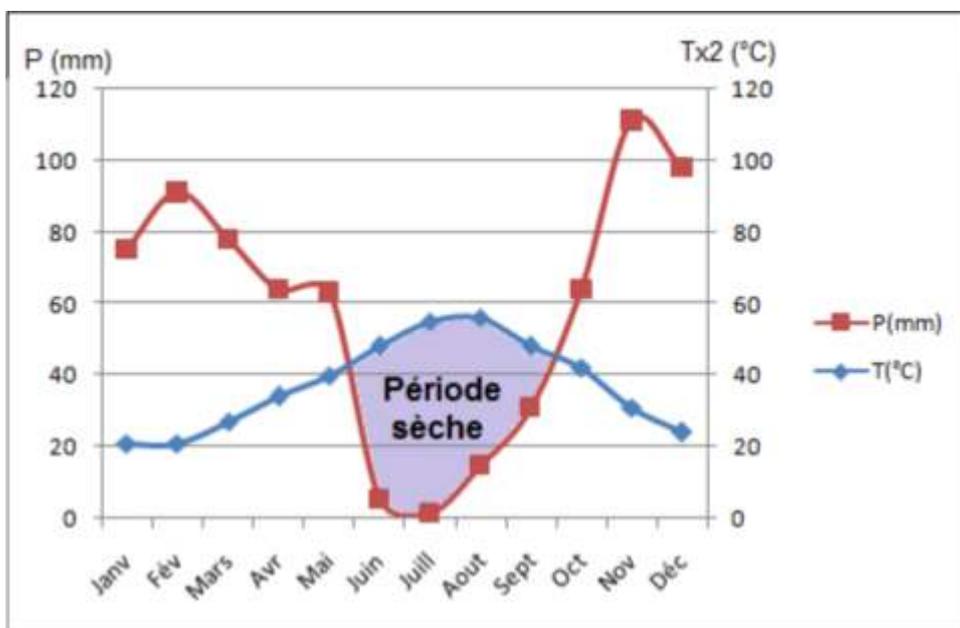


Figure 6 : Diagramme Ombrothermique (2005/2015) de Blida

Les précipitations varient de 111 à 1.5 mm, entre le plus humide et le plus sec des mois. Entre la température la plus basse et la plus élevée de l'année, la différence est de 17.5°C. Juillet et Aout sont les mois les plus chauds de l'année. Le mois le plus froid de l'année est celui de Janvier avec une température moyenne de 10°C.

3-3Echantillonnage

Nous avons fait un échantillonnage aléatoire des deux plantes (*Rosmarinus Officinalis*) et (*Origanum Floribundum*).

Pour garantir l'intégrité de nos échantillons.

- Éviter la cueillette des échantillons en temps humide,
- Garder les échantillons dans un endroit sec et frais,
- éviter toute source de contamination et veiller à ce que les échantillons soient séchés,
- les échantillons ne doivent jamais être séchés au four, car les températures élevées peuvent influencer sur les résultats de l'analyse.

3-4 Préparations du matériel végétal

Les plantes ont été séchées à l'air libre dans l'obscurité jusqu'à la dessiccation complète (7 jours) (**Ayadietal.,2011**). Ensuite nous avons séparé les feuilles des rameaux et conservé dans des sacs en papiers afin de les utiliser à la préparation des extraits éthanolique, méthanolique et aqueux. (Figure 7)



(Photo personnel ,2019)

Figure 7 : la conservation du matériel végétal

3-5 Préparation des extraits

3-5-1 Ethanoliques et Méthanoliques

Les feuilles sèches de romarin et d'origan ont été broyées et conservées dans des flacons en verre, hermétiquement fermés, à basse température 4°C. Une prise de 10g de la poudre végétale a été mise à macérer dans 100 ml de méthanol ou éthanol sous agitation pendant 24 heures à une température $25 \pm 2^\circ\text{C}$, les extraits obtenus ont été filtrés sous hôte stérile et évaporés à sec sous pression réduite à $50 \pm 5^\circ\text{C}$ au rotavapor. Les résidus secs sont repris par 3 ml de DMSO et conservés à une température de $4 \pm 1^\circ\text{C}$ jusqu'à leur utilisation (figure 8) (Falleh et al.,2008).



(Photo personnel ,2019)

Figure 8: Préparation des extraits

3-5-2Extrait aqueux

L'infusion est utilisée pour les parties les plus fragiles de la plante : les pétales et les jeunes feuilles très fines. Elle consiste à verser 100ml d'eau chaude ou bouillante sur 10g de poudre sèche ensuite les mettre 24h sous agitation, puis filtrer l'infusion sous haute stérile.

3-6Evaluation de l'activité antimicrobienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des deux plantes étudiées, nous avons utilisé la méthode d'aromatogramme, c'est une méthode inspirée de l'antibiogramme. Il permet de déterminer l'activité inhibitrice de l'huile essentielle par mesure du diamètre d'inhibition, autour d'un disque imprégné de celle-ci, ou d'un produit à base d'huile essentielle (Vincent, 1991).

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé à effet antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition (Cavallo, 2007). (Figure 9)

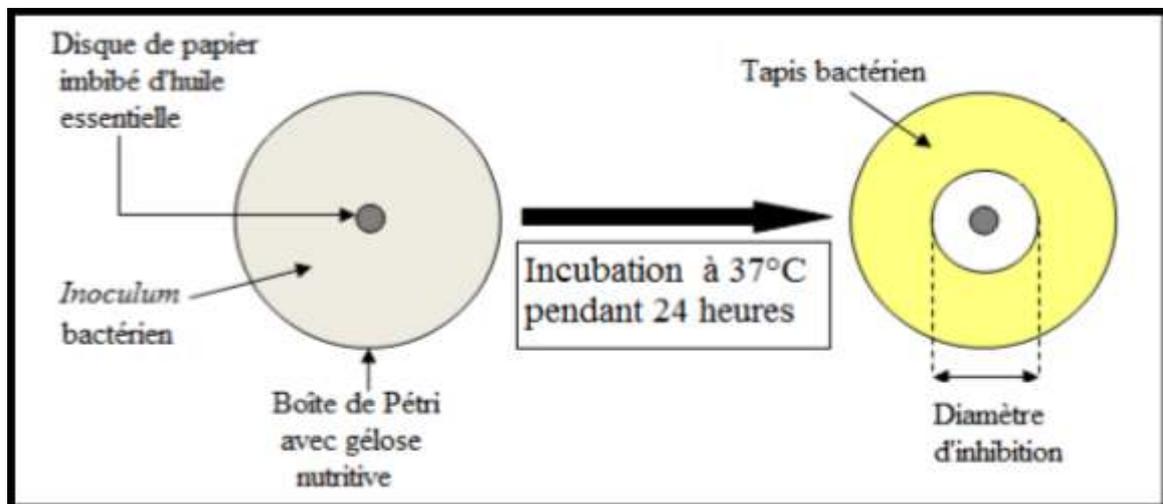


Figure 9 : la technique de l'aromatogramme.

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des EM, EE et aqueux des deux espèces (*Rosmarinus Officinalis*) et (*Origanum Floribundum*), deux souches bactériennes ont été testées : *E-coli*, *P. aeruginosa*.

Les souches testées sont largement rencontrées dans diverses pathologies chez l'homme (Tableau 1).

Ces souches bactériennes ont été fournies par le laboratoire d'hygiène de Blida, après avoir été purifiées et identifiées.

Tableau 1 : Généralités sur les souches bactériennes utilisées.

Souches bactériennes	testées Caractères bactériologiques	Habitats	Pouvoir pathogène
Escherichia coli	Gram (-)	- Le tube digestif	Infections urinaires Septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastroentérites. - Douleurs abdominales et des diarrhées sanglantes.
Pseudomonas aeruginosa	Gram (-)	Eau et sols humides - Surface des végétaux	- Infections nosocomiales (personnes fragilisées ou immunodéprimées) - Infections urinaires, oculaires et pulmonaires.

[DELLARAS (2007), JOLI et REYNAUD (2002), HART et SHEARS (1997)., in Mouas, 2018]

3-7 Préparation des suspensions microbiennes (l'inoculum)

A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement, on racle par une anse de platine, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile, homogénéiser la suspension bactérienne. L'ensemencement doit se faire en moins en quelques minutes après la préparation de l'inoculum (**Djelloul Daouadji, 2010**) (annexe 1).

3-8 Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture utilisé, Mueller Hinton (M.H), est stérilisé à l'autoclave pendant 15 minutes à $121 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Les milieux de culture sont coulés aseptiquement dans les boites de Pétri à 4 mm de hauteur et on laisse refroidir et solidifier (Harrar, 2012) (figure 10).



(Photo personnel ,2019)

Figure 10 : La coulée des boites de pétrie

3-9 Ensemencement

Il se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzen. Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, l'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



(Photo personnel ,2019)

Figure 11 : l'ensemencement des suspensions.

3-10 Dilutions des extraits EM et EE

Avant la réalisation des tests antibactériens, nous avons préparé des solutions à différentes dilutions.

Nous procédons à la préparation de nos 24 solutions dans des tubes secs : 4 éthanoliques et 4 méthanoliques pour l'origan et 8 EE et 8 EM pour le romarin de Sidi El Kebir et HM (tableau 2).

Tableau 2 : la présentation des contenus des tubes.

Dilutions	Origan		Romarin O	Romarin HM
	Nbr Tubes	Composition et Concentration	Composition et Concentration	Composition et Concentration
Dilution n1	2	Extraits brute (100%)	Extraits brute (100%)	Extraits brute (100%)
Dilution n2	2	(50%) 1ml E brute +1ml DMSO	(50%) 1ml E brute +1ml DMSO	(50%) 1ml E brute +1ml DMSO
Dilution n3	2	(20%) 1ml E brute + 4ml DMSO	(20%) 1ml E brute + 4ml DMSO	(20%) 1ml E brute + 4ml DMSO
Dilution n4	2	(10%) 1ml E brute + 9ml DMSO	(10%) 1ml E brute + 9ml DMSO	(10%) 1ml E brute + 9ml DMSO

3-11 Préparations des disques

Des disques vierges de 6 mm de diamètre, sont stérilisés dans des tubes à essai à l'autoclave 120°C pendant 20min.

A l'aide d'une pince stérile, les disques imprégnés d'une quantité de l'extrait (brut) et des solutions diluées de l'EM, EE et aqueux préalablement dissouts dans le di-méthylsulfoxyde (DMSO), ont été déposés à la surface des boites de pétrie ensemencées par les souches à tester (figure 12).



(Photo personnel ,2019)

Figure 12 : le dépôt des disques imbibés

Les boîtes sont ensuite fermées et laissées diffuser à la température ambiante pendant 30 mn et mise à l'étuve à une température de 37°C pendant 24 heures.

3-12 Incubation et lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied coulisse en mm.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles (**Ponce et al.,2003**) (tableau 3).

Tableau 3 : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	diamètre < 8mm
Sensible (+)	diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible	

(+++)	diamètre > 20 mm
-------	------------------

(PONCE et al. 2003)

Le diamètre des zones d'inhibition (ZI), nous permet d'estimer la résistance ou la sensibilité des différentes souches bactériennes testées.

Chapitre 4 : Résultats et discussions

4-1 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de l'origan

Cette partie consiste à évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de l'origan sur les deux souches testées : *E-coli* et *P. aeruginosa*.

4-1-1 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis : *E-coli*

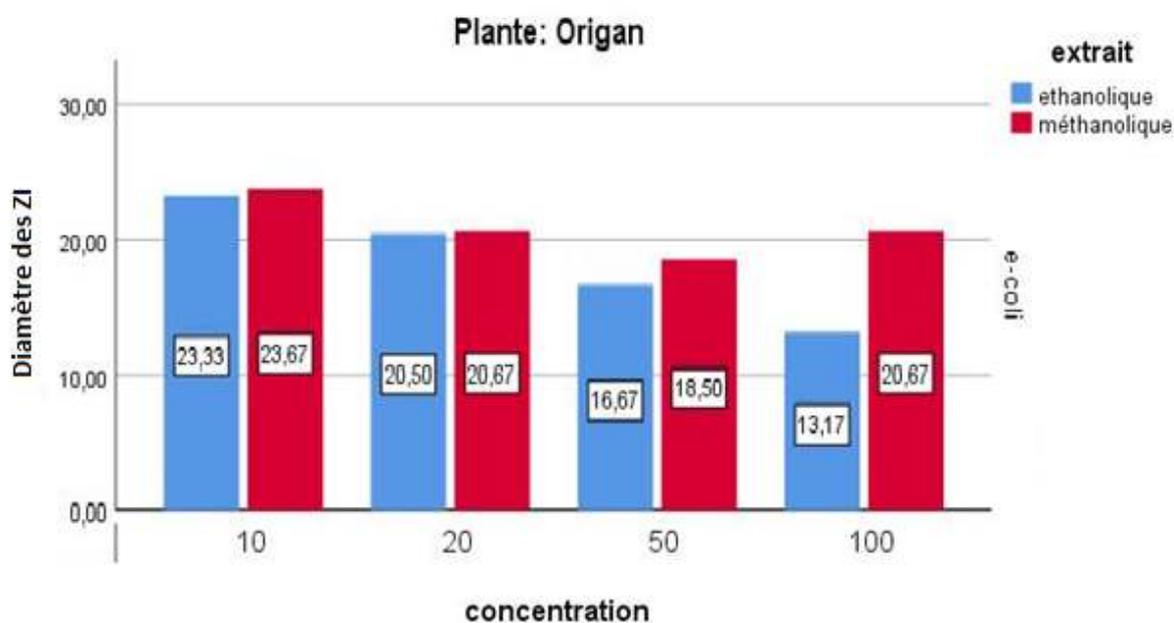


Figure13 : Pouvoir antibactérien des extraits d'Origan vis-à-vis *E-coli*.

A la concentration 10 % *E-coli* a montré une sensibilité extrême envers les deux extraits avec une moyenne de 23,33mm pour l'EE et 23.67mm pour l'EM.

A la concentration 20% une légère diminution a été enregistrée pour l'EE (20,50mm) et pour l'EM (20,67mm).

Les deux dernières concentrations 50% et 100% une diminution enregistré seulement pour l'extrait éthanolique (M=1,67mm et M=13,17).

L'analyse de la variance MANOVA montre que :

- A 100% l'EE et EM les résultats obtenus avec les deux extraits EE – EM sont significatives $0,047 < 0,05$.
- A 50%, 20%, 10% sont non significatives $> 0,05$. (Annexe 2).

4-1-2 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis *P. aeruginosa*

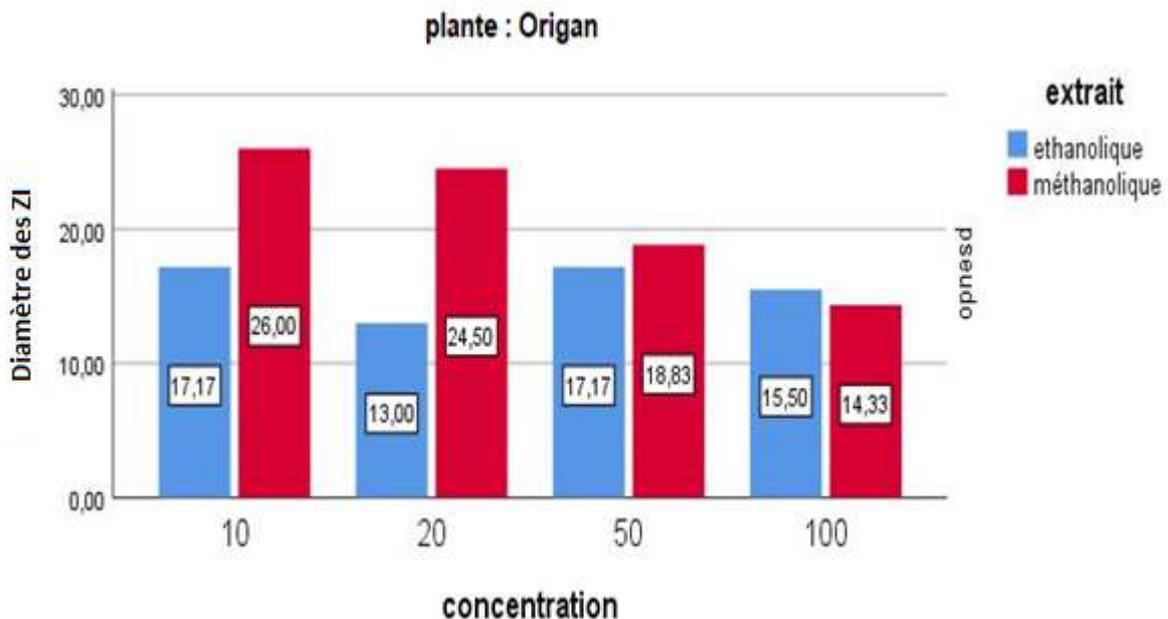


Figure 14 : pouvoir antimicrobien des extraits d'origan vis-à-vis *P. aeruginosa*

D'après les résultats, l'EM a montré un pouvoir antimicrobien extrêmement actif pour *P. aeruginosa*.

Cette sensibilité a diminué progressivement jusqu'à la concentration 100% (26mm – 24,50mm-16,83mm- 14,33mm).

Pour l'EE, les moyennes des zones d'inhibitions ont été très rapprochées pour les autres concentrations testées, et moins importantes que celles obtenues par l'EM.

L'analyse de la variance MANOVA montre que :

- A 100%, 50% les résultats obtenus avec les deux extraits EM et EE sont non significatives $0,665 > 0,05$.
- A 20%, 10% EE et EM sont hautement significatives $0,000 < 0,05$. (Annexe 2).

4-2 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de romarin

Cette partie consiste à évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de RO-O sur les deux souches testées : *E-coli* et *P. aeruginosa*.

4-2-1 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis *E-coli*

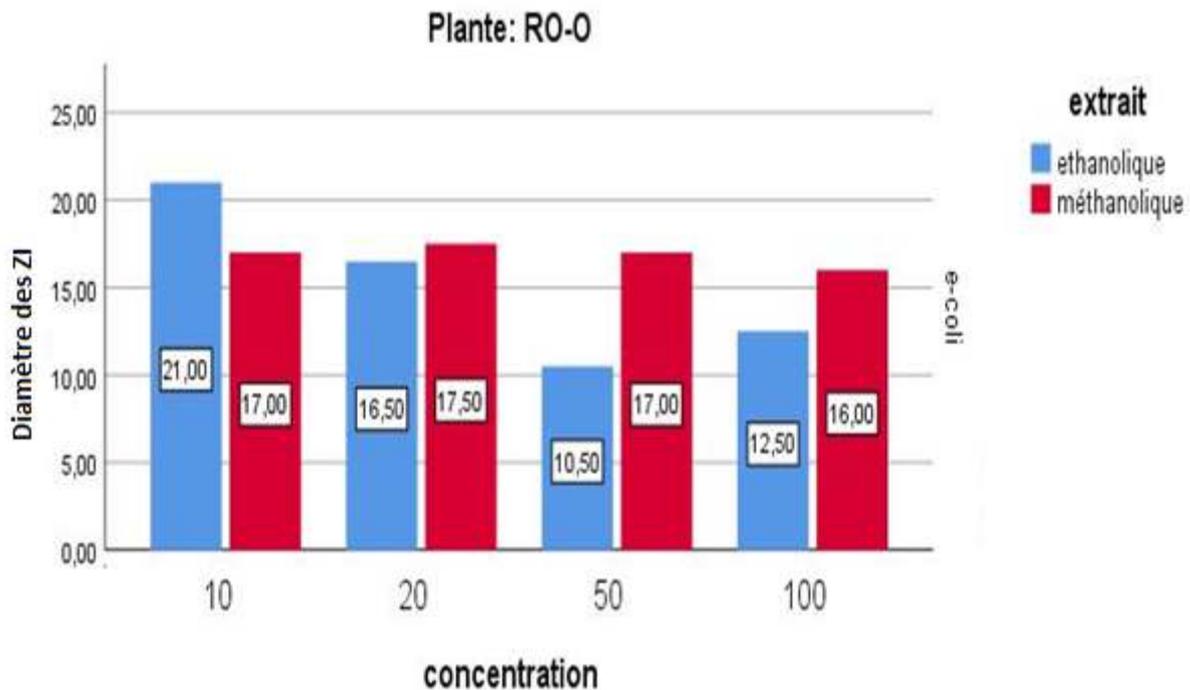


Figure 15: Pouvoir antibactérien des extraits de RO-O vis-à-vis *E-coli*

Le diamètre le plus élevé est enregistré avec l'EE, à la concentration 10% (M=21mm), une diminution du diamètre d'inhibition de l'EE est enregistré chez les autres concentrations.

Pour l'EM les valeurs sont presque identiques pour les quatre concentrations (10%= 17mm, 20%= 17,50mm, 50%= 17mm, et a 100%= 16mm).

L'analyse de la variance MANOVA montre que :

- Les quatre concentrations ainsi que pour l'EE et EM les résultats sont non significatifs $>0,05$ (Annexe 2).

4-2-2 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis *P. aeruginosa*

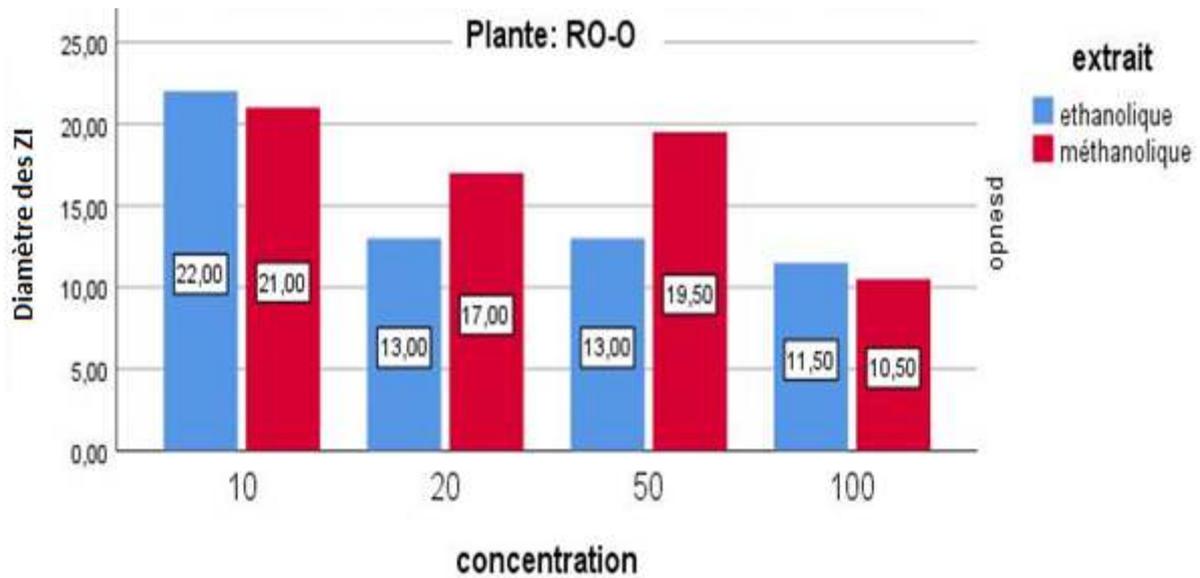


Figure 16: Pouvoir antibactérien des extraits de RO-Ovis-à-vis *P. aeruginosa*.

Les résultats montrent que les ZI les plus élevés sont obtenus à la concentration 10% pour les deux extraits l'EE et EM avec respectivement (22mm, 21mm). L'activité inhibitrice a diminué pour la concentration 20% ou l'EM a manifesté la plus importante ZI avec (M=17mm) suivi par l'EE avec un diamètre de (M=13mm). Les concentrations 50% et 100% ont présentées l'activité inhibitrice la plus faible pour les EE comparé aux EM.

L'analyse de la variance MANOVA montre que :

- Les quatre concentrations ainsi que pour l'EE et EM les résultats sont non significatifs $>0,05$ (Annexe 2).

4-3 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de RO-HM

Cette partie consiste à évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de RO-HM sur les deux souches testées : *E-coli* et *P. aeruginosa*.

4-3-1 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis *E-coli*

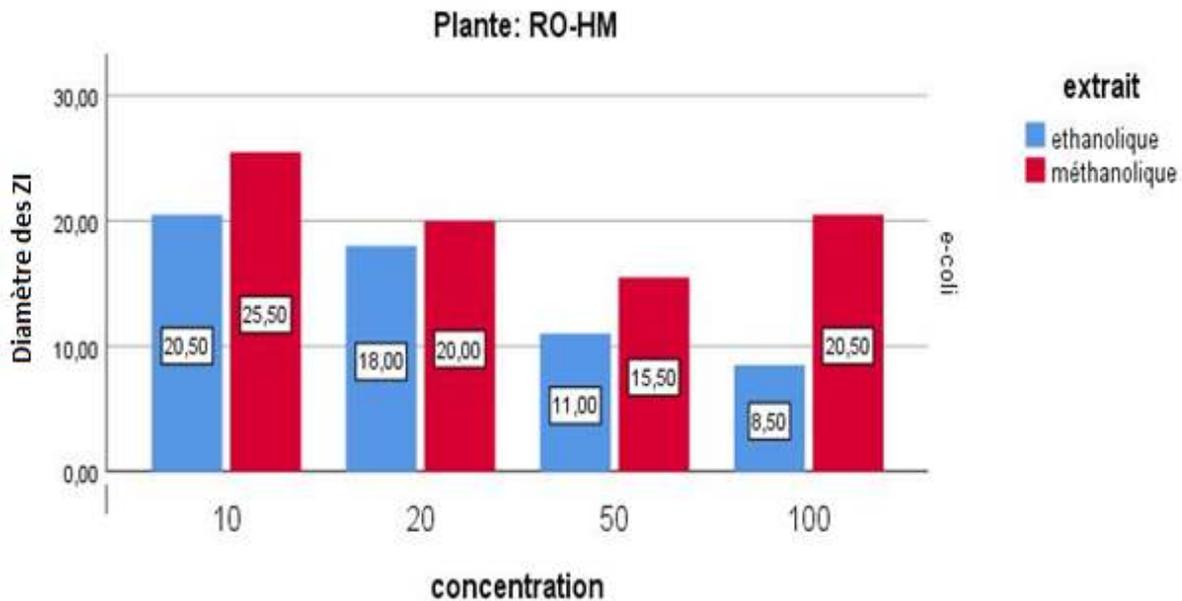


Figure 17: Pouvoir antibactérien des extraits de RO-HM vis-à-vis *E-coli*.

A la concentration 10% *E-coli* a montré une sensibilité extrême envers l'EM et L'EE avec respectivement (20.50mm et 25.50mm).

A partir de la concentration 20%, on a enregistré une diminution des ZI de l'EE jusqu'à la concentration 100%. Pour l'EM les zones d'inhibitions restent rapprochées avec les trois concentrations : 20%, 50% et 100%.

L'analyse de la variance MANOVA montre que :

- A 100% et pour les deux extraits, la différence est hautement significative $0.001 < 0.05$
- A 50%, 20%, 10% et pour les deux extraits l'EE et EM la différence est non significative $> 0,05$ (Annexe 2).

4-3-2 Activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis *P. aeruginosa*

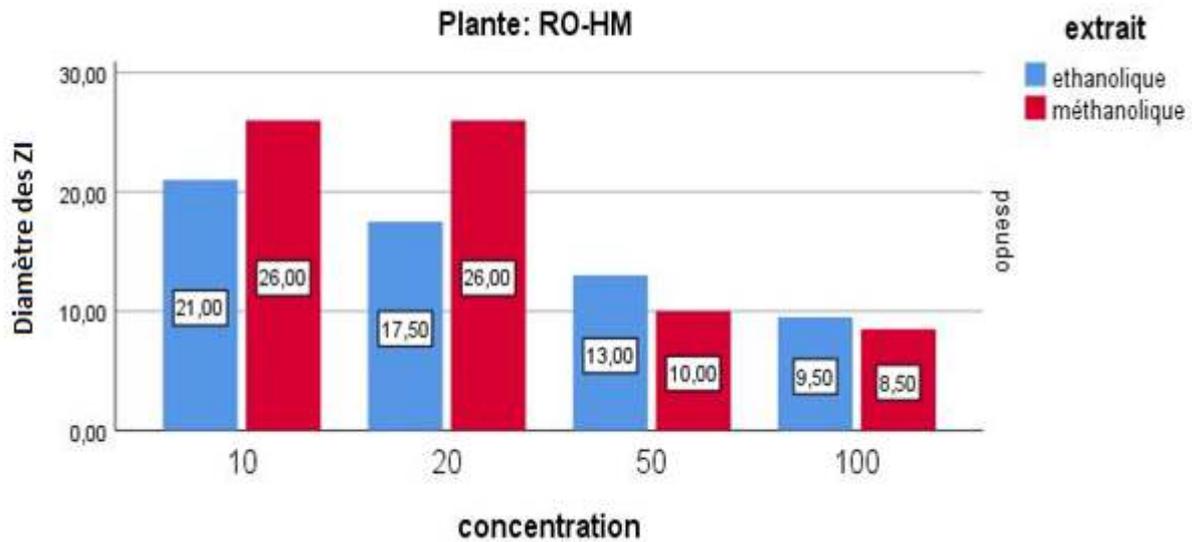


Figure 18 : Pouvoir antibactérien des extraits de RO-HM vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.

L'activité antimicrobienne la plus importante est obtenue avec l'EM, aux concentrations 10% et 20% (26mm) suivi par celle de l'EE, à la concentration 10% (21mm).

L'analyse de la variance MANOVA montre que :

- A 100%, 50%, 10% et pour les deux extraits l'EE et EM les résultats sont non significatifs $>0,05$
- A 20% EE et EM sont significatifs $0.017 < 0.05$ (Annexe 2).

4-4 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits aqueux des deux plantes

Cette partie consiste à évaluer l'activité antimicrobienne des extraits aqueux des deux plantes (*Rosmarinus officinalis L.* et *Origanum floribundum*) vis-à-vis les deux souches testées : *E-coli* et *P. aeruginosa*.

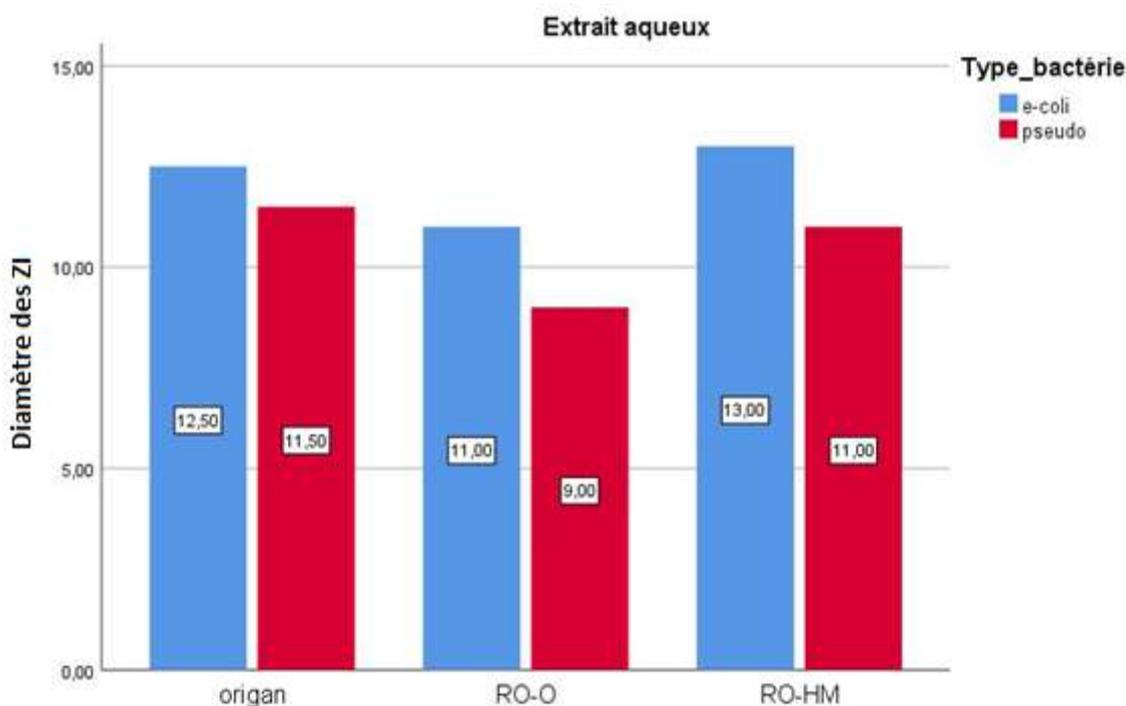


Figure 19 : Pouvoir antibactérien des extraits aqueux vis-à-vis *E-coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats obtenus montrent que l'EA des deux plantes étudiées a montré un pouvoir antimicrobien moyennement élevé vis-à-vis les souches testées.

L'analyse de la variance MANOVA a montré une différence significative entre l'EA et les extraits EE et EM (Annexe 2).

4-2 Discussion

Les résultats indiquent que chacune des deux plantes a une activité assez bien définie sur la croissance d'*E. Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats ont aussi montré que tous les extraits des deux plantes possèdent une activité antimicrobienne plus ou moins importante envers les deux bactéries testés.

A partir de ces résultats nous pouvons déduire que l'EE, EM et EA extraites de plante d'Origan récolté dans Hammam Melouane (Blida) présentent une activité

antimicrobienne plus importante que celle de romarin récolté dans les deux localités Hammam Melouane et Sidi El Kebir.

L'étude de pouvoir antimicrobien des différents extraits de l'origan et du romarin, a permis de visualiser une action inhibitrice plus intéressante de l'EM et EE par rapport à l'EA.

Les résultats montrent que le pouvoir antimicrobien est en relation avec la nature du produit testé de la région (provenance) et la souche testée.

Lorsqu'on compare les degrés de sensibilité de nos souches testées, (gram-), avec les autres travaux qui ont testé des souches à gram+, on trouve que nos résultats sont comparables à ceux confirmant que les bactéries à gram+ sont plus sensibles aux extraits des plantes que les bactéries à gram- (**Poole, 2001**).

La sensibilité des bactéries est en effet dépendante du gram. (**Dorman et Deans, 2000**).

Nos résultats sont comparables avec ceux de (**Baratta et al.,1998**) qui ont testé l'effet d'huiles essentielles de romarin, de Laurier, de coriandre et d'origan contre 25 bactéries et qui ont observé que l'origan manifestait l'activité la plus large et la plus élevée contre presque toutes les bactéries testées. En fait, elle inhibait 19 des 25 souches bactériennes étudiées et montrait une bonne activité contre quatre d'entre elles et était inefficace à stopper la croissance de deux d'entre elles.

Plusieurs travaux ont démontré que le pouvoir antimicrobien élevé de plusieurs espèces d'origan est attribué à leur richesse en composés phénoliques (carvacrol et thymol) (**Bekhech et al.,2008**). La plupart des travaux qui ont eu pour objet l'étude du mécanisme d'action des composés phénoliques avancent que leur principal site d'action est la membrane plasmique bactérienne (**Bekhech et al.,2008**). Ils sont aptes à s'intégrer dans la membrane cellulaire des bactéries (**Bekhech et al.,2008**).

La membrane perd sa structure et devient plus perméable aux ions (**Bekhech et al.,2008**). La lésion de la membrane cellulaire peut également permettre la dissipation du gradient pH et la diminution du potentiel membranaire (**Bekhech et al.,2008**).

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* est liée à sa grande capacité de développer des résistances vis-à-vis de nombreux agents antimicrobiens, d'où son implication fréquente dans les infections hospitalières. Plusieurs auteurs rapportent la faible, voire l'absente activité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des huiles essentielles de diverses espèces d'origan (**Bekhech et al.,2008**).

Conclusion

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation des antimicrobiens naturels. La découverte de ressources naturelles du règne végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutique.

La présente étude a porté sur l'extraction des extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux des espèces *Origanum floribundum* et *Rosmarinus officinalis* Lde deux région différentes. Les deux espèces appartiennent à la famille des lamiacées, une des familles les plus importantes dans la flore algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnels.

La méthode d'aromatogramme a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien ses différents extraits utilisé vis-à-vis les souches bactériennes testées.

Nous avons constaté que les extraits de l'origan possèdent une activité antibactérienne plus importante que les extraits du romarin, vis-à-vis les souches bactériennes testées.

Les extraits du romarin récolté dans la localité Hammam Melouane a présenté un pouvoir antibactérien plus important que celui récolté dans la localité de Sidi El Kebir. Donc le facteur environnemental.,les conditions climatiques qui changent d'une région à une autre, présentent un effet direct sur les paramètres que nous avons étudié.

Nous constatons d'après les résultats que l'extrait aqueux des deux espèces étudiées présente une activité antimicrobienne moins importante que celle des extraits méthanolique et éthanolique des même plantes.

Les résultats montrent que les zones d'inhibition les plus élevées sont obtenues à la concentration 10%,avec une importante activité enregistrée pour extrait méthanolique.

Nous avons constaté que les extraits méthanoliques, éthanoliques et aqueux possèdent une activité antimicrobienne importante vis-à-vis les souches testées malgré leur résistances.

Chacune des deux plantes a une activité assez bien définie sur la croissance d'*E. Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les extraits d'*Origanum Floribundum* et *Rosmarinus Officinalis L* récoltés au Nord d'Algérie sont riches en éléments phénoliques, surtout le carvacrol. Leur action sur *Pseudomonas aeruginosa* résistant aux carbapénèmes ouvre la perspective d'usage de ce type de molécules pour la prévention et la lutte contre l'apparition, la transmission et la dissémination de bactéries résistantes, et à l'issue de ce travail de recherche, et en vue d'approfondir les résultats obtenus, il est souhaitable d'étudier d'autres provenances en utilisant des techniques plus performantes en vue de mettre en lumière d'autres effets thérapeutiques et biocides du romarin et d'origan.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

1. **Abayomi Sofowora., (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique [En ligne]. Ed. Kartalah , France : Amazon, Disponible sur site : <https://books.google.dz> (Consulté le 20.05.2019) P375
2. **Abed, L.,** « La plante médicinale de la tradition à la science » Ed. Michel Grancher, France (1997), pp120-140.
3. **Ameenah G.F., 2006.** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow Molecular Aspects of Medicine, 27:1-93.
4. **Anonyme 1.**<https://fr.climate-data.org/afrique/algerie/blida/blida-3562/#climate-graph> consulté le 18-05-2019.
5. **Arnold N., Valentini G., Bellomaria B., Laouer H.,** «Comparative study of the essential oils from Rosmarinus eriocalyx Jordan & Fourr. From Algeria and R. officinalis L. from other countries». J.essent.Oil Res. 9: (1997), 167-175.
6. **Baratta M.T. et al., (1998).**Chemical composition and antioxidative activity of laurel, sage rosemary, oregano and coriander essential oils, J. Essent. oil Res, 10: 618-27.
7. **Bardeau, F.,** « la médecine par les fleurs ». Ed. Robert Laffont. Paris. (1978), 440p.
8. **Bekhech. C, Atik-Bekkara. F, Abdelouahid.D.E., 2008.** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'Origanum glandulosum d'Algérie. Phytothérapie, 6: 153–159.
9. **Beloued.A., 2014.**Plantes médicinales d'Algérie. Ed Office des publications universitaires. El Harrach- Alger, ISBN 978.9961003046.
10. **Bendahou M; Benyoucef M; Benhada D; Soussa Elisa M.B.D; Galvao E.L; Marque M.M.O; Muselli A; Desjobert J.M; Bernardini A.F; Costa J. (2007).**Influence of the processus extraction on essential oil of Origanum glandulosum. Journal of applied sciences 7(8): 1152-1157.
11. **Bendjelali B; Tantaoui E.A; Esmaili-Alaoui M. (1986).** Méthodes d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieugélosé. Plantes Médicinales et phytothérapie 20: 155-167.
12. **Benghanou M., (2012).** La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la santé public, Institue de formation paramédical CHETTIA (Alger) :56.

13. **Besombes, C.**, « Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques », Thèse doctorat université de la rochelle, (2008), 130p.
14. **Bousbia, N.** « Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ». Thèse. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger. (2011). 128p.
15. **Bouزيد, A., Chadli, R., Bouزيد, K.**, «Etude ethnologique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbès en Algérie occidentale » *Phytothérapie*, V.15 (2017), 373-378.
16. **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., Anackov, G.**, «Characterization of the volatile composition of essential oil of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils». *J. Agric. Food Chem.* 54: (2006), 1822-1828.
17. **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales, 3ème édition, Paris: Edition médicales internationales, Tec et Doc, Lavoisier, 1120p.
18. **Cavallo, 2007.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.
19. **Chaabi M., 2008.** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines: *Euphorbia stenola* Baill. (Euphorbiaceae), *Anogeissus liliifolia* Guill. Etperr. (Combrétaceae), *Limoniastrum feei* (Girard) Batt. (Plumbaginaceae). Thèse de doctorat en pharmaco-chimie, Université, Louis Pasteur et Université MENTOURI de Constantine(Algérie): 179,180.
20. **Cuvelier M.E., Richard H. et Berset C.**, «Antioxydative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary » *J. Am. Of Chem. Soc.* Vol. 73, (1996), pp. 645-665.
21. **Dellaras (2007), Joli et Reynaud (2002), Hart et Shears (1997).**, in **Mouass, (2018).** EFFET COMPARATIF DES PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES, BIOCHIMIQUES ET THERAPEUTIQUES DE ROMARIN *Rosmarinus officinalis* L. Thèse de Doctorat. Blida : USDB1, 165 p.
22. **Dias, P.C., Foglio, M.A., Possenti, A., DE Carvalho, J.E.** « Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. » *Enthnopharmacol*, 69, (2000), 57-62.
23. **Djelloul Daouadji., (2010)**

24. **Dorman, H.J. & Deans, S.G.**, «Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils». *Journal of Applied Microbiology*, 88 (2), (2000), 308-316.
25. **GUY G, 2005**. Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse. Ed L'harmattan. 5-7, rue de l'Ecole- polytechnique, 75005 Paris. France.
26. **Guy G., 2011**. Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse. Ed L'harmattan. 5-7, rue de l'Ecole- polytechnique, 75005 Paris. France.
27. **Harrar A.E.N.**, «Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L.». Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. (2012), 73 p
28. **Heinrich, M., Kufer, J., Leonti, M., PARDO-DE-SANTAYANA, M.**, «Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences». *J Ethnopharmacol.* 107, (2006), 157-160.
29. **Heller W, Forkmann G., (1993)**. Bionsynthesis of flavonoides. Chapman and hall, London: 499-535.
30. **Hopkins W.G., (2003)**. Physiologie végétale. 2 ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris : 514.
31. **Ietswaart, J. H (1980)**. A taxonomic Revision of Genus *Origanum* (Labiatae). Leiden Botanical Series 4. Leiden University Press, The Hague, Netherlands.
32. **Inouye S., Takazawa T. AND Yamaguchi H.**, «Antimicrobial activity of the essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact». *Journal of Antibacterial Chemotherapy.* 47: (2001). 565-573.
33. **Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybert E., De Laage De Meux A., Moulard F., Zha E., De La Roque R., De La Roque O., Vican P., Deesalle-Feat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bleth J., Botrel A., 2001**. Laroussedes plantes medicinales : identification, préparation, soins. 2^{ème} édition VUEF, Hong kong : 335.
34. **Lopez, P., Sanchez, C., Batlle, R., Nerin, C.**, «Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains». *J. Agric. Food Chem.* 53, (2005), 6939-6946.

35. **Maw.G., Tanr. X., Fuzzati N., Liq. S. Wolfender J. L., Hostettmann K.,**
1997. Natural occurring and synthetic polyyn glycosides. *Phytochemistry*, 45(2):
411-415.
36. **Mouass, (2018).**EFFET COMPARATIF DES PARAMETRES
PHYSIOLOGIQUES, BIOCHIMIQUES ET THERAPEUTIQUES DE ROMARIN
Rosmarinus officinalis L. Thèse de Doctorat. Blida : USDB1, 165 p.
37. **Pelt J.M., (1980).** Les drogues, leur histoire et leurs effets. Edition Doin,
Paris : 221.
38. **Ponce, A.G., Fritz, R., Del Valle, C. & Roura, S.I.,** «Antimicrobial activity of
essential oils on the native microflora of organic Swiss chard». *Lebensmittel
Wissenschaft und Technologic*, 36, (2003), 679-684.
39. **Poole, K.,** «Multidrug resistance in Gram-negative bacteria». *Current Opinion
in Microbiology* 4, (2001), 500-508.
40. **Quezel P et Medail F** « La région circumméditerranéen, Centre mondial
majeur de biodiversité végétale. Institut Méditerranéen d'Ecologie et de la
Paléoécologie ». France, (1995), 152-55.
41. **Sango R., 2006.** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle.
Université Bamako(Mali): 56.
42. **Sarni-Mnchado P et Vernonique C., (2006).** Les polyphénols en
agroalimentaire. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition
TEC et DOC, Paris (France) :398.
43. **Teuscher E; Anton R. et Lobstein A. 2005.** plantes aromatiques: épices,
aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc édition, paris.
44. **Vincent, 1991.**L'aromatogramme. Encyclopédie de médecine naturelle,
phytothérapie, aromathérapie, Paris.
45. **Wichtel M, Anton R, (2009).** Plante thérapeutique tradition, pratique
officinale, science et thérapeutique. Edition LAVOISIR, Paris: 38, 41.

ANNEXE

Annexe 1



La balance



Autoclave



L'inoculum



Préparation des extraits aqueux



Figure 1 : effet de EE et ME de RO-O sur E-coli

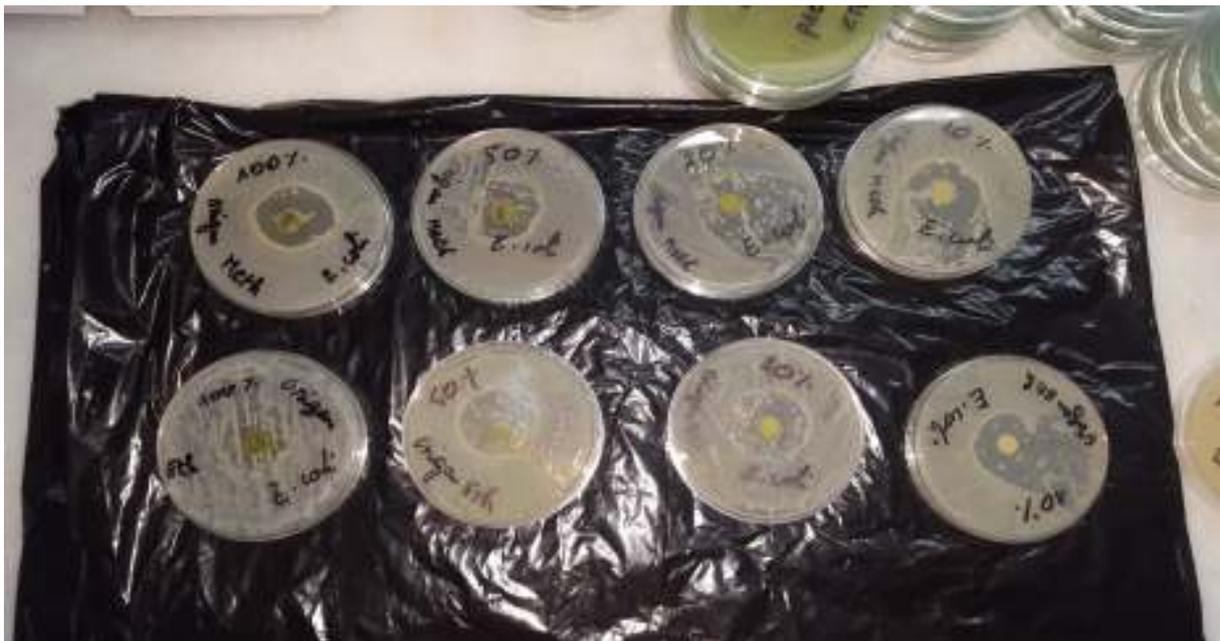


Figure 2 : effet d'EE et EM d' Origan sur E-coli



Figure 3 : effet de EE et EM de RO-HM sur E-coli



Figure 4 : effet d'EA sur e-coli



Figure 5 : effet d'EA sur P. aeruginosa



Figure 6 : effet de EE et EM de RO-HM sur *P. aeruginosa*



Figure 7 : Le diamètre d'inhibition

Annexe 2

Comparaisons appariées

Variable dépendante:

Type bactérie				Différence moyenne (I-J)	Erreur standard	Signification ^d	Intervalle de confiance à 95 % pour la différence ^d		
							Borne inférieure	Borne supérieure	
e-coli	Origan	100	Ethanolique	Méthanolique	-7,000 [*]	3,448	0,047	-13,913	-0,087
			Aqueux		6,000	3,448	0,088	-0,913	12,913
		Méthanolique	Ethanolique		7,000 [*]	3,448	0,047	0,087	13,913
			Aqueux		13,000 [*]	3,448	0,000	6,087	19,913
		Aqueux	Ethanolique		-6,000	3,448	0,088	-12,913	0,913
			Méthanolique		-13,000 [*]	3,448	0,000	-19,913	-6,087
	50	Ethanolique	Méthanolique		5,500	3,448	0,117	-1,413	12,413
				Aqueux		. ^b			
		Méthanolique	Ethanolique		-5,500	3,448	0,117	-12,413	1,413
			Aqueux		. ^b				
		Aqueux	Ethanolique		. ^c				
			méthanolique		. ^c				
20	Ethanolique	méthanolique		2,500	3,448	0,472	-4,413	9,413	
			Aqueux		. ^b				
	Méthanolique	Ethanolique		-2,500	3,448	0,472	-9,413	4,413	
		Aqueux		. ^b					
	Aqueux	Ethanolique		. ^c					
		méthanolique		. ^c					
10	Ethanolique	méthanolique		0,000	3,448	1,000	-6,913	6,913	
			Aqueux		. ^b				
	Méthanolique	Ethanolique		0,000	3,448	1,000	-6,913	6,913	
		Aqueux		. ^b					
	Aqueux	Ethanolique		. ^c					
		méthanolique		. ^c					
RO-O	100	éthanolique	méthanolique		-3,500	3,448	0,315	-10,413	3,413
			Aqueux		1,500	3,448	0,665	-5,413	8,413
		méthanolique	Ethanolique		3,500	3,448	0,315	-3,413	10,413
			Aqueux		5,000	3,448	0,153	-1,913	11,913
		Aqueux	Ethanolique		-1,500	3,448	0,665	-8,413	5,413
			méthanolique		-5,000	3,448	0,153	-11,913	1,913
	50	éthanolique	méthanolique		-6,500	3,448	0,065	-13,413	0,413

		Aqueux	. ^b					
	méthanolique	Ethanolique	6,500	3,448	0,065	-0,413	13,413	
		Aqueux	. ^b					
	aqueux	Ethanolique	. ^c					
		méthanolique	. ^c					
20	éthanolique	méthanolique	-1,000	3,448	0,773	-7,913	5,913	
		Aqueux	. ^b					
	méthanolique	Ethanolique	1,000	3,448	0,773	-5,913	7,913	
		Aqueux	. ^b					
	aqueux	Ethanolique	. ^c					
		méthanolique	. ^c					
10	éthanolique	méthanolique	4,000	3,448	0,251	-2,913	10,913	
		Aqueux	. ^b					
	méthanolique	Ethanolique	-4,000	3,448	0,251	-10,913	2,913	
		Aqueux	. ^b					
	aqueux	Ethanolique	. ^c					
		méthanolique	. ^c					
RO-HM	100	éthanolique	méthanolique	-12,000*	3,448	0,001	-18,913	-5,087
		Aqueux	-4,500	3,448	0,197	-11,413	2,413	
	méthanolique	Ethanolique	12,000*	3,448	0,001	5,087	18,913	
		Aqueux	7,500*	3,448	0,034	0,587	14,413	
	aqueux	Ethanolique	4,500	3,448	0,197	-2,413	11,413	
		méthanolique	-7,500*	3,448	0,034	-14,413	-0,587	
50	éthanolique	méthanolique	-4,500	3,448	0,197	-11,413	2,413	
		Aqueux	. ^b					
	méthanolique	Ethanolique	4,500	3,448	0,197	-2,413	11,413	
		Aqueux	. ^b					
	aqueux	Ethanolique	. ^c					
		méthanolique	. ^c					
20	éthanolique	méthanolique	-2,000	3,448	0,564	-8,913	4,913	
		Aqueux	. ^b					
	Méthanolique	Ethanolique	2,000	3,448	0,564	-4,913	8,913	
		Aqueux	. ^b					
	aqueux	Ethanolique	. ^c					
		méthanolique	. ^c					
10	éthanolique	méthanolique	-5,000	3,448	0,153	-11,913	1,913	
		Aqueux	. ^b					
	méthanolique	Ethanolique	5,000	3,448	0,153	-1,913	11,913	

				Aqueux	. ^b				
			aqueux	Ethanolique	. ^c				
				méthanolique	. ^c				
Pseud o	Origan	100	éthanolique	méthanolique	1,500	3,448	0,665	-5,413	8,413
				Aqueux	14,000*	3,448	0,000	7,087	20,913
			méthanolique	Ethanolique	-1,500	3,448	0,665	-8,413	5,413
				Aqueux	12,500*	3,448	0,001	5,587	19,413
			aqueux	Ethanolique	-14,000*	3,448	0,000	-20,913	-7,087
				méthanolique	-12,500*	3,448	0,001	-19,413	-5,587
		50	éthanolique	méthanolique	-1,500	3,448	0,665	-8,413	5,413
				Aqueux	. ^b				
			méthanolique	Ethanolique	1,500	3,448	0,665	-5,413	8,413
				Aqueux	. ^b				
			aqueux	Ethanolique	. ^c				
				méthanolique	. ^c				
		20	éthanolique	méthanolique	-22,000*	3,448	0,000	-28,913	-15,087
				Aqueux	. ^b				
			méthanolique	Ethanolique	22,000*	3,448	0,000	15,087	28,913
				Aqueux	. ^b				
			aqueux	Ethanolique	. ^c				
				méthanolique	. ^c				
		10	éthanolique	méthanolique	-22,500*	3,448	0,000	-29,413	-15,587
				Aqueux	. ^b				
			méthanolique	Ethanolique	22,500*	3,448	0,000	15,587	29,413
				Aqueux	. ^b				
			aqueux	Ethanolique	. ^c				
				méthanolique	. ^c				
	RO-O	100	éthanolique	méthanolique	1,000	3,448	0,773	-5,913	7,913
				Aqueux	2,500	3,448	0,472	-4,413	9,413
			méthanolique	Ethanolique	-1,000	3,448	0,773	-7,913	5,913
				Aqueux	1,500	3,448	0,665	-5,413	8,413
			aqueux	Ethanolique	-2,500	3,448	0,472	-9,413	4,413
				méthanolique	-1,500	3,448	0,665	-8,413	5,413
		50	éthanolique	méthanolique	-6,500	3,448	0,065	-13,413	0,413
				Aqueux	. ^b				
			méthanolique	Ethanolique	6,500	3,448	0,065	-0,413	13,413
				Aqueux	. ^b				
			aqueux	Ethanolique	. ^c				

		méthanolique	.c					
20	éthanolique	méthanolique	-4,000	3,448	0,251	-10,913	2,913	
		Aqueux	.b					
	méthanolique	Ethanolique	4,000	3,448	0,251	-2,913	10,913	
		Aqueux	.b					
	aqueux	Ethanolique	.c					
		Méthanolique	.c					
10	éthanolique	Méthanolique	1,000	3,448	0,773	-5,913	7,913	
		Aqueux	.b					
	méthanolique	Ethanolique	-1,000	3,448	0,773	-7,913	5,913	
		Aqueux	.b					
	aqueux	Ethanolique	.c					
		Méthanolique	.c					
RO-HM	100	éthanolique	Méthanolique	1,000	3,448	0,773	-5,913	7,913
		Aqueux	-1,500	3,448	0,665	-8,413	5,413	
	méthanolique	Ethanolique	-1,000	3,448	0,773	-7,913	5,913	
		Aqueux	-2,500	3,448	0,472	-9,413	4,413	
	aqueux	Ethanolique	1,500	3,448	0,665	-5,413	8,413	
		Méthanolique	2,500	3,448	0,472	-4,413	9,413	
50	éthanolique	Méthanolique	3,000	3,448	0,388	-3,913	9,913	
		Aqueux	.b					
	méthanolique	Ethanolique	-3,000	3,448	0,388	-9,913	3,913	
		Aqueux	.b					
	aqueux	Ethanolique	.c					
		Méthanolique	.c					
20	éthanolique	Méthanolique	-8,500	3,448	0,017	-15,413	-1,587	
		Aqueux	.b					
	méthanolique	Ethanolique	8,500	3,448	0,017	1,587	15,413	
		Aqueux	.b					
	aqueux	Ethanolique	.c					
		Méthanolique	.c					
10	éthanolique	Méthanolique	-5,000	3,448	0,153	-11,913	1,913	
		Aqueux	.b					
	méthanolique	Ethanolique	5,000	3,448	0,153	-1,913	11,913	
		Aqueux	.b					
	aqueux	Ethanolique	.c					
		Méthanolique	.c					

Basées sur les moyennes marginales estimées

*. La différence moyenne est significative au niveau 0,05.

b. La combinaison de niveaux des facteurs dans (J) n'est pas observée.

c. La combinaison de niveaux des facteurs dans (I) n'est pas observée.

d. Ajustement pour les comparaisons multiples : Différence la moins significative (aucun ajustement).