

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et Organismes

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de
Master académique en Biologie
Option : Phytothérapie et Santé

THEME

**Evaluation de quelques activités biologiques de l'huile
essentielle et l'extrait aqueux de
Salvia Officinalis L. (La Sauge)**

Présenté Par

Djabali Wissam
Grine Meriem

Soutenu le : 26 juin 2016 à 11h00

Devant le jury composé de :

M ^{me} Bradea .M.S	MCA	Université Blida 1	Présidente
M ^{me} BENMANSOUR.N	MAA	Université Blida 1	Examinatrice
M ^{me} CHERIF .H.S	MCB	Université Blida 1	Promotrice
M ^{lle} AKKACHE .L	DES	Saidal El Harrach	co-Promotrice

❧ Promotion: 2015-2016 ❧

Remerciements

En premier lieu, nous remercions Dieu le tout puissant pour nous avoir donné le courage et la patience de mener à bien ce modeste travail.

On tient à exprimer notre très grande considération et notre vive reconnaissance à notre promotrice Mme Cherif H.S, pour ses encouragements et sa disponibilité durant toutes les étapes de ce travail.

Nos remerciements vont à Mme Bradea.M .S. pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

On tient à remercier Mme Benmansour.N qui a bien voulu examiner et évaluer ce travail.

Nos sincères remerciements s'adressent à notre Co-promotrice M^{lle} Akkache L. qui n'a pas cessé de nous diriger et de nous transmettre tout son savoir jusqu'à la fin de ce travail.

Nos profonds remerciements vont également à Mme Bakhti, M^{elle} Nekkab I., Mr Boukhatem R. pour nous avoir autorisé à accéder à leurs laboratoire ainsi que pour leurs gentillesse, aide, et conseils tout au long de notre stage.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Merci Allah (Mon Dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère maman en signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour tous les soutiens et les sacrifices dont elle a fait preuve à mon égard.

A mon père qui m'a toujours encouragé et motivé dans mes études

A mes très chères sœurs : Hasna , Rym, Bisma.

A mes adorables neveux Yacine et Wassim.

A mes nièces Titou et Riham.

A mes chères cousines Imene et Marwa .

A tout les membre de ma famille.

Une spéciale dédicace à Nihad Merci pour ton grand cœur et toutes vos qualités qui serait trop longue à énumérer.

A ma très chère Siham merci énormément pour ton soutien plus que précieux.

A mes très chères amis, d'être toujours a mes cotés :Safa, Wissam, Fazia, SabINETTE , Abir, Nessma, Amina ,Maïssa, Ilhem ,Khadidja, Caroline, Leïla, Nesrine.

A mon binôme : Meriem

Et a tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible je vous dit Merci.

♥ *Wissam* ♥

Liste des abréviations

ATCC: American Type Culture Collection.

CG/MS: chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

CRD : Centre de Recherche et de Développement (Alger).

D₂₀²⁰ : Densité relative.

DZI : Diamètre zone d'inhibition en mm.

ENSA : Ecole Nationale des sciences Agronomique.

Fig : Figure.

HE: huile essentielle.

I_a: Indice d'acide.

I_e: Indice d'ester.

I_S: indice de saponification.

N: normalité.

NMRI: Naval Medical Research Institute.

OMS: organisation mondiale de la santé.

ONAB: Office National des Aliments et du Bétails.

T₀ : au temps à égal à zéro.

TSA: Trypticose soja agar.

UV-VIS : ultra violet visible.

Ziphee bio : Zidane production huiles essentielles à engrais biologiques.

Liste des abréviations

INTRODUCTION

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. La phytothérapie	01
I.2. Les plantes médicinales	01
I.3. Etude de la plante	02
I.3.1. Présentation de la famille des lamiacées	02
I.3.2. Origine et histoire	02
I.3.3. Présentation de la plante	03
I.3.3.1. Description botanique de la plante.....	03
I.3.4. Systématique et classification	06
I.3.5. Etymologie	07
I.3.6. Habitat	07
I.3.7. Exigences édaphiques de la plante	07
I.3.8. La récolte	07
I.3.9. Composition chimique de la plante	08
I.3.10. Propriétés thérapeutiques de la sauge	08
I.4.1 Définition des huiles essentielles	10
I.4.2. Les caractères organoleptiques des huiles essentielles	10
I.4.3 Rôle des huiles essentielles	10
I.4.4 Bioactivité de quelques principes de HE	10
I.4.5. La conservation des huiles essentielles.....	11
I.4.6. Les méthodes d'extraction	11
I.4.7. Distillation	11

I.4.8. Hydrodistillation	11
I.4.9. Entraînement à la vapeur d'eau	12

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel	14
II.1.1. Matériel biologique	14
II.2.1. Traitements préliminaires des parties utilisées	17
II.2.2. Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de (<i>Salvia officinalis</i> L.)...18	
II.2.3. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par CG- MS.....21	
II.2.4. screening phytochimiques	22
II.3. Evaluation des activités biologiques	24
II.3.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de <i>Salvia officinalis</i> L.....24	
II.3.2. Etude de l'activité hypoglycémiant de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....26	
II.3.4. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de <i>Salvia officinalis</i> L.....27	

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Résultats.....	32
III.1.1. Résultats de l'étude phytochimique	32
III.1.1.1. Caractères organoleptiques	32
III.1.1.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'HE	32
III.1.1.3. Analyse de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L par CG/MS	34
III.1.1.4. Screening phytochimique de la plante	34
III.2. Résultats de l'étude des activités biologiques	35
III.2.1. Activité antimicrobienne	35

Sommaire

III.2.1.1. Résultats de l'aromatogramme.....	36
III.2.1.2 Résultats de la microatmosphère	37
III.2.2. Résultats de l'activité anti-inflammatoire	39
III.2.3. Résultats de l'activité hypoglycémiante	40
Conclusion	44
références bibliographiques	46
Annexes	

Résumé

Cette étude a pour objectif de déterminer la composition chimique et d'évaluer les activités antimicrobienne, anti-inflammatoire et hypoglycémiant de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de la sauge provenant de la région de Lakhdaria-Bouira.

Les tests phytochimiques réalisés sur la poudre et l'infusé de *Salvia officinalis*, révèlent la présence de plusieurs familles de composés bioactifs : glucosides, tanins, flavonoïdes alcaloïdes, Terpenènes, Saponosides, Leucoanthocyanes.

Les résultats des analyses physico-chimiques montre que l'huile essentielle présente une densité relative de 0.924, un indice de réfraction égale à 1,467, un indice d'acide égale à 1,75, un indice de saponification égale à 10,05, un indice d'ester d'une valeur égale à 8.3, et Karl Fisher 0.25% et un pH égale à 3,57.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle et l'extrait aqueux, vis-à-vis de seize souches de référence, a été évaluée par deux méthodes (Antibiogramme et Microatmosphère). De toutes les souches testées, quatre d'entre elles se sont révélées très sensibles face aux différentes concentrations de l'huile essentielle de *salvia officinalis* (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et la souche fongique *Aspergillus braziliensis*) où les diamètres de zone d'inhibitions obtenus oscillent entre 24 mm et 48 mm pour les disques imprégnés de 25µl d'huile essentielle, la phase vapeur de l'essence a exhibé une action inhibitrice sur la croissance de presque toutes les souches et notamment pour l'espece *Bacillus subtilis* avec un diamètre de zone d'inhibition de 54mm pour la faible dose (20µl) et une inhibition totale pour la dose (60µl), Une action « dose-dépendante » a été aussi notée pour toutes les souches testés. par ailleurs, l'extrait aqueux est faiblement actifs sur les souches bactériennes et fongiques.

L'effet anti-inflammatoire a révélé que l'huile essentielle réduit de façon importante l'œdème de la patte de la souris induit par la carraghénine à 1%, suite à une comparaison avec le traitement standard (Diclofénac), et que l'extrait aqueux possèdent une activité anti inflammatoire moins importatante que celle de l'huile essentielle.

En outre, l'évaluation de l'effet hypoglycémiant de l'huile essentielle chez des lapins rendus diabétiques par l'induction de surcharge du D-glucose a montré que l'administration orale provoque une diminution importante de taux du glucose dans le sang.

Mots clés : *Salvia officinalis*, Huile essentielle, Extrait aqueux, Activités biologiques, Activité antimicrobienne

Abstract

This study aims to determine the chemical composition and evaluate the antimicrobial, anti-inflammatory, hypoglycemic activities of the essential oil and aqueous sage extract .

Phytochemical tests of *Salvia officinalis*, revealed the presence of several families of bioactive compounds: glycosides, tannins, flavonoids, alkaloids, Terpenènes, saponins, leucoanthocyanins.

The results of physicochemical analysis shows that the essential oil has a specific gravity of 0.924, a refractive index equal to 1.467, an index of acid equal to 1.75, a saponification index equal to 10.05, an ester value equal to 8.3, and Karl Fisher 0.25% and a pH equal to 3.57.

The antibacterial activity of the essential oil and the aqueous extract, against sixteen reference strains was assessed by two methods (Antibiogram and microatmosphere). Of all strains tested, four of them have been very sensitive about the various concentrations of the essential oil of *Salvia officinalis* (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus fungal braziliensis* strain) where the diameters inhibition's zone obtained between 24 mm and 48 mm for disks impregnated with 25µl of essential oil, the vapor of gasoline exhibited an inhibitory effect on the growth of almost all strains, particularly for specie *Bacillus subtilis* a diameter of 54mm inhibition area for the low dose (20µl) and a total inhibition at the dose (60µl) an action "dose-dependent" was also noted for all strains tested .Moreover, the extract aqueous is weakly active against bacterial and fungal strains.

The anti-inflammatory effect found that the essential oil reduced the paw edema of mous induce by carrageenin 1%, following a comparison with the standard treatment (Diclofénac). and that the aqueous extract possess a less a anti inflammatory activity than the essential oil.

In addition, the evaluation of the hypoglycemic effect of the essential oil in rabbits made diabetic by the D-glucose overload induction showed that oral administration causes a significant decrease in glucose levels in the blood.

Key words: *Salvia officinalis*, Essential oil, Aqueous extract, Biological activities, Antimicrobial activity

الملخص :

قمنا بدراسة الزيت الأساسي و النقيع (المستخلص المائي) لنبته الناعمة (*Salvia Officinalis*) بهدف معرفة مكوناتها الكيميائية و دراسة بعض خصائصها الحيوية.

الدراسة التجريبية ضمنت تحليل كيميائي للنبته مكننا من معرفة مختلف مركباتها و التي تضم الغلوكوسيد, التانن, الفلافونويد , الالكالويد , التربان, الصابونوزيد و اللوكوانتسيان

النتائج المتحصل عليها أثبتت أن الزيت الأساسي يتكون من 20 مركب كيميائي وبنسبة عالية من ألفا تيون حوالي 30%.

التحليل الفيزيوكيميائية التي أجريناها على الزيت الطيار لنبته الناعمة , أثبتت أن الزيت المدروسة ذو كثافة تساوي 0.924, معامل انعكاس يساوي 1,467 و معامل حموضة يقدر ب 1,75 , ومعامل التصبن ب 10,05 و معامل أسترة يساوي 8.3 و المعامل كارل فيشر يعادل نسبة 0.25%.

كما بينت هذه الدراسة مختلف النشاطات الحيوية لنبته الناعمة حيث تبين أن الزيت الأساسي له نشاط مثبط للبكتيريا المدروسة خاصة ضد باسيلوس سبتيليس و اشريشيا كولي و ستافيلوكوكوس اوريوس و ضد الفطر اسبارجيلوس برازليانسيس بنتائج تتراوح بين 24 و 48 مم بالنسبة للتركيز 25 ميكرو لتر هذا بالنسبة الى طريقة اغوماتو عرم.

أما بالنسبة إلى طريقة الميكروايموسفار (البخار) للزيت الأساسي. فاثبتت نشاط مثبط تقريبا على جميع العينات المدروسة خاصة باسيلوس سوبتيليس 54 مم بالنسبة للتركيز المنخفض 20 ميكرو لتر و تثبيط تام في أعلى تركيز 60 ميكرو لتر مقارنة مع المستخلص المائي (نشاط ضعيف) .

فحص الأثر المضاد للالتهاب اثبت أن الزيت الأساسي , له فعالية مهمة في تثبيط الالتهاب المفتعل عن طريق مادة الكراجين مقارنة مع الدواء المرجعي ديكلوفيناك . أما المستخلص المائي فله نشاط مثبط للالتهاب اقل مقارنة مع كل من الزيت الاساسي و الدواء المرجعي

أثبتت الدراسة التي أجريت على الأرانب التي افتعلنا لها السكري عن طريق مادة الغلوكوز أن النبتة المدروسة لها نشاط معدل لنسبة السكر في الدم.

الكلمات المفتاحية :

الزيت الأساسي, الناعمة *officinalis salvia*, المستخلص المائي, النشاطات الحيوية النشاط , البيكترولوجي

Introduction

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales, **(Iserin, 2001)**. Grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et en agriculture, **(Mohammedi, 2006)**.

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité, **(Pelt, 2001)**.

L'Algérie, de part son aire géographique et sa diversité climatique riche en flore naturelle, recèle d'une gamme importante de plantes médicinales et aromatiques, faisant partie du grand patrimoine végétal de ce pays **(Baba aissa, 2001)** Parmi ces plantes médicinales il y'a la sauge « *Salvia officinalis* » une plante annuelle et biennale d'origine méditerranéenne de la famille des lamiacées, **(Djerroumi, 2004)** .

La sauge est utilisée depuis l'antiquité, elle possède des propriétés, stimulantes, tonique, digestive, fébrifuge, et vulnérable, c'est donc un remède à un haut degré, **(Beloued, 2001)**. Cette drogue est employée de nos jours comme antiphlogistique dans les inflammations buccale et pharyngées, **(Wichtl et Anton, 2003)**

Dans le but de contribuer à la valorisation de la flore algérienne en vue d'identifier de nouvelles substances potentiellement intéressantes sur le plan biologique et thérapeutiques, Notre objectif étant :

- d'évaluer les paramètres physicochimiques de l'huile essentielle de *salvia officinalis*
- Etudes de quelques activités biologiques de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* (antimicrobienne, anti inflammatoire, hypoglycémiant)

A fin de justifier l'usage traditionnel de la plante par la population .

I.1. La phytothérapie :

La phytothérapie vient du grec *:phytos* ,qui signifie :plantes , et *terapeia* :traitement, (**Moatti et al.,1983.,Luc sallé.,1991**) . C'est la plus ancienne façon au monde de se soigner, on la retrouve dans toutes les civilisation, chacune d'entre elles ayant élaboré sa propre thérapeutique au fil des siècles, (**Verbois, 2015**).

Le sens donné à ce terme rend compte qu'il s'agit bien d'une méthode thérapeutique basée sur l'utilisation de remèdes végétaux (frais, ou desséchés, ou sous toutes formes extractives) qui présentent de nombreuses indications, auxquelles il est possible de se référer pour le traitement de bien des maladies humaines, (**Chamouleau, 1979**).

La phytothérapie est une thérapeutique utilisant des parties (feuilles, fleurs, écorces, racines, graines, fruits, zeste....) des plantes médicinales aromatiques ou non aromatiques ou leurs formes immédiatement dérivées excluant les principes actifs d'extraction pure isolé. De nombreuses formes médicamenteuse sont proposées : tisanes, gélules, d'extrait ou de poudre, teinture mère, macérât glyciné, jus de plantes, (**Bruneton, 2002**) (**Millet, 2013**).

I.2. Les plantes médicinales :

On appelle plante médicinale, un végétal dont un (ou plusieurs) organe possède des activités pharmacologiques de nature à permettre son emploi en thérapeutique (**Boullard, 2001**).

Ces dernières servent surtout comme matières premières dans l'industrie pharmaceutique, (**Thurzova,1985**).

Les herbes aromatique du jardin comme la lavande , le thym, la sauge, le basilic, le romarin, la menthe, l'achillée et la menthe poivrée font partie des plantes médicinales les plus éprouvées et sont utilisées depuis très longtemp à des fin thérapeutique sous la forme de tisane, d'onguents, de cataplasme ou de teintures, (**Gladstar, 2013**).

Il s'agit de végétaux ou partie de plantes, appelées aussi plantes pharmaceutique, à usage médicinale, utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie ainsi que dans la confection de boissons, soit nature soit en préparation galénique, soit sous forme de principes actifs, comme matière première ou « précurseurs » pour l'obtention du médicaments, (**Cababet, 1967**).

Les scientifiques affirmeront enfin qu'elle a des principes actifs et que ce sont ces principes actifs, composant importants de la plante, qui lui confèrent son caractère médicinal, **(Fuinel, 2002)**.

I.3. Etude de la plante

I.3.1. Présentation de la famille des lamiacées :

Famille des lamiers, des Menthes, des Thym, etc., Plantes herbacées, annuelles ou vivaces, ou sous-arbrisseaux, très rarement des arbres (un genre sud-américain : Hyptis). Famille cosmopolite, mais absente des régions les plus septentrionales, et particulièrement bien représentée dans le bassin méditerranéen avec les genres *Sideritis*, *Micromeria*, *phlomis*,...). Plante des milieux ouverts, avec de rares espèces en forêt tropicale humide.

C'est une vaste famille de près de 7000 espèces réparties en 250 genres, **(Martin, 2014)**.

Les principaux genres sont *Salvia*, avec 800 espèces ; *Clerodendrum*, avec 400 espèces ; *Scutellaria*, avec 400 espèces ; *Stachys*, avec 300 espèces ; *Nepeta* avec, 250 espèces, *Vitex* avec, 250 espèces ; *Tencrium*, avec 200 espèces ; *Premna* avec, 200 espèces ; *Callicarpa* avec, 140 espèces... ; *Lamium* avec 40 espèces, **(Botineau, 2010)**.

Cette famille renferme de nombreuses plantes aromatiques et condimentaires , riche en huiles essentielles puissantes, **(Folliard , 2014)**.

On note également que les huiles essentielles de plusieurs Lamiaceae peuvent se révéler dangereuses lorsqu'elles sont ingérées à forte dose, **(Bruneton ,2007)**.

I.3.2. Origine et histoire :

La sauge (*Salvia officinalis* L .) est une plante médicinale aux multiples vertus **(Silberfeld, 2013)** . Elle est utilisée depuis l'antiquité à des fins médicinales, **(Sallé, 1991)**.

Originnaire du bassin méditerranéen **(Stumpf, 2013)** assez commune en Algérie **(Baba aissa , 2011)** Elle avait bonne renommée chez les Grecs et les Romains. les moines la répandirent très tôt au-delà des Alpes. Pendant des siècles, la plante jouit d'une extraordinaire réputation : il n'a sans doute existé aucune maladie contre laquelle on ne recommandait pas la sauge,(**Jorek ,1983)**.

Dans la Rome antique, on la considérait comme sacrée et donc capable de sauver. Les femmes qui n'arrivent pas à être enceintes devaient boire des infusions de sauge pour pouvoir espérer une grossesse, **(Bartels, 1998)**. Elle a été introduite en Europe, au Moyen Age, puis en Amérique au 17^{ème} siècle, **(Grunwald et Janicke, 2006) (Moussaoui, 2011)**.

Aujourd'hui, la plante est cultivée intensivement en Europe occidentale, aux USA et en Russie pour ses fleurs au goût piquant, utilisée comme aroma, **(Nacef et Djerrouni, 2013)**.

I.3.3. Présentation de la plante :

I.3.3.1. Description botanique de la plante :

La sauge est une plante à racines ramifiées, à tige quadrangulaire dressée, blanche, tomenteuse, peut atteindre de 20 à 60 cm de hauteur, **(Dellile, 2007) [fig 01]** vivace, buissonnante et herbacée, certaines deviennent ligneuse en climat doux, **(Graham, 2007)**.

La sauge a une odeur forte, aromatique, balsamique, **(Mahmoudi, 2003)**. avec une saveur chaude, aromatique, légèrement amère et brûlante et astringente, **(Eberhard et al, 2005)**.

La tige : est ligneuse, légèrement velue, quadrangulaire dressées et très ramifiées, blanches, tomenteuses, **(Beloued, 1998)**.

Feuilles : sont persistantes, opposées, ridées, de forme ovale, **(Djerroumi et Nacef, 2004)** elliptiques, de couleur vert blanchâtre, finement crénelés, **(Baba-aissa, 2011)**. avec une face supérieure grise verte est finement granuleuse et une face inférieure blanche, pubescente et présente un réseau dense de petites nervures, **(Moyse, 1976) [Fig 02, Fig 03]**

Fleurs : sont d'environ 2 cm de long, de couleur bleu rose lilas, visibles de mai à août, sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures et l'ensemble forme de grandes épis. La corolle est tubuleuse, garnie à la base d'un anneau de poils, et la lèvre supérieure est presque droite, **(Wichl et Anton, 2003)[Fig 04]**

Fruits : est un tétrakène ovale, sphérique avec un diamètre de 3mm, **(Bartels, 1998)**. de couleur brun foncé. Chaque akène est de forme globuleuse, **(Eberhard et al, 2005)**.



Figure01 : Aspect morphologique de (*Salvia officinalis* L.)

(Original, 2016)

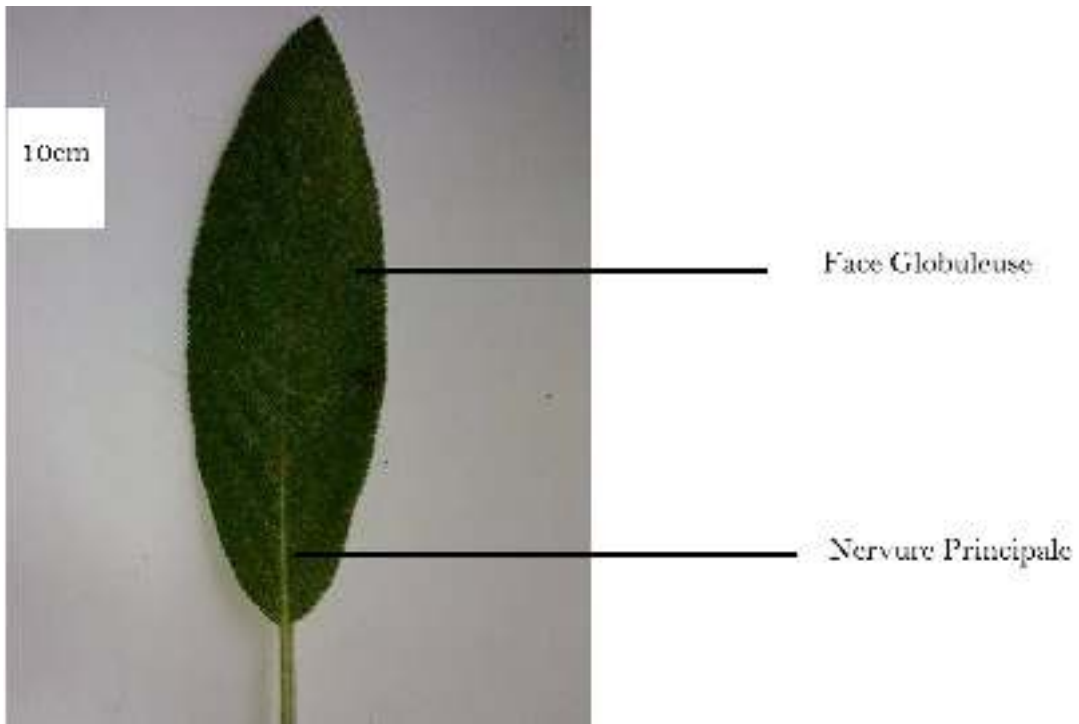


Figure 02 : Structure de la feuille (face superieure) (Original, 2016)

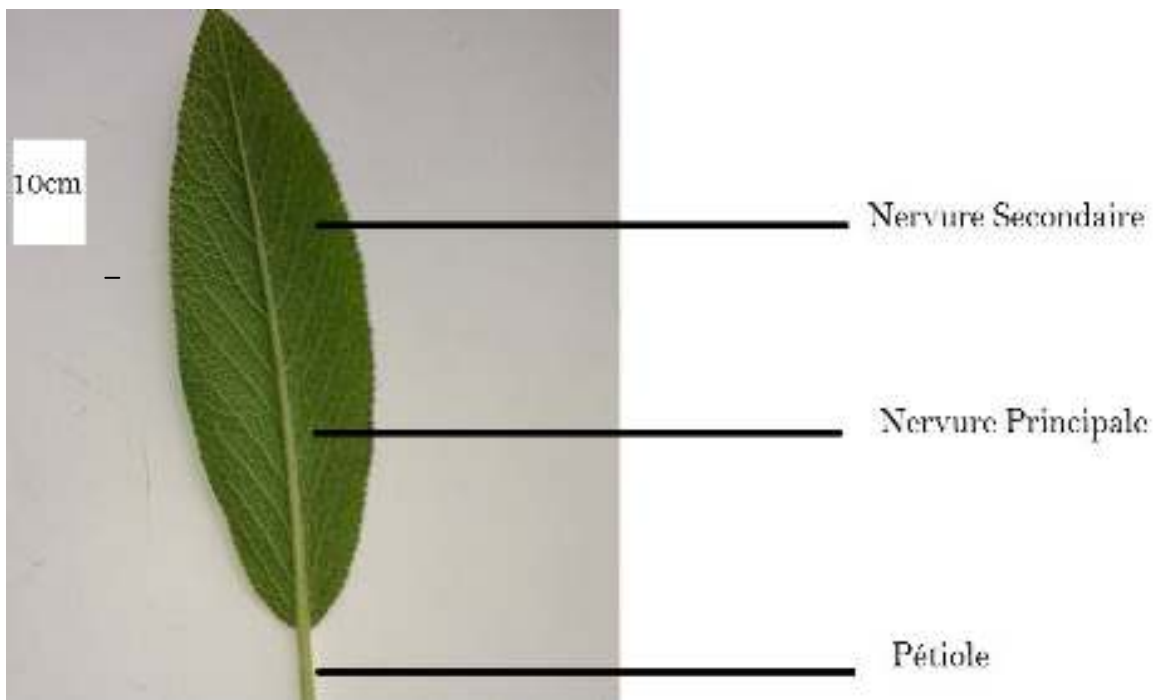


Figure 03 : Structure de la feuille (face inferieure) (Original, 2016)

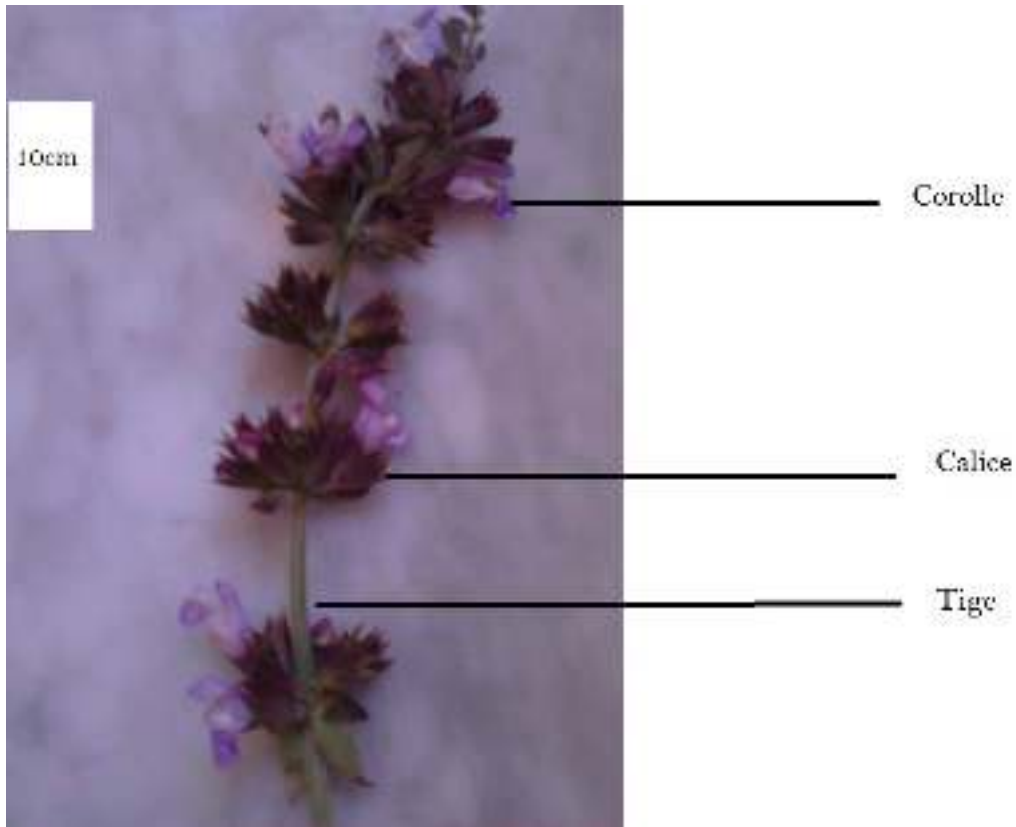


Figure 04 : Structure de la fleur de *Salvia officinalis* (original, 2016)

I.3.4 Systématique et classification :

Selon l'APG (2009) la sauge est sous le classement suivant :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphyte

Sous embranchement : Angiosperme

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Asterdae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèce : *salvia officinalis* L.

I.3.5. Etymologie :

Nom latin : *Salvia officinalis*

Nom arabe : souak en'bi سواك النبي , ناعمة Nàama, حبيقة السدر Houbiqat essedr . السالمية Salmiya , (Moussaoui ,2011).

Nom français : herbe sacrée, (Leclerc, 1994). grande sauge, (Baba aissa, 2011) .

Thé d'Europe, thé de France, thé de la Grèce, thé de Provence, sauge franche, (Teuscher et al, 2005) (Delille , 2013) .

I.3.6. Habitat :

On trouve la sauge dans les coteaux secs et dans les jardin, (Thurzova et al, 1985). Cette plante commune dans toute l'Algérie, sur les terrains secs, ne se rencontre cependant que rarement à l'état spontané , elle est très cultivée et il en existe plusieurs variétés, (Delille , 2013) , elle pousse mieux en plein soleil, dans un sol bien drainé, (McIntyre ,2011).

I.3.7. Exigences édaphiques de la plante :

On peut semer la sauge, dès février, dans la maison ou dans un endroit protégé .On transplante en mai, en respectant un espacement de 30 à 40 cm entre chaque plant. La sauge préfère un sol calcaire bien aéré et ensoleillé. Il est préférable de se procurer des boutures ou d'enfoncer des branches dans le sol , ou elles prennent racines et peuvent ensuite être divisées .En automne , on rabat la sauge environ de moitié , et on la protège contre le gel par des ramilles .Au printemps, on rabat à nouveau à 10 cm de hauteur , ce qui fait repartir la plante, (Jorek, 1983). Pour un bon développement, la sauge doit pousser sur un sol riche en en élément nutritifs, (Thurzova et al, 1985). la sauge n'apprécie pas les sols trop riches en humus, (Teuscher et al, 2005).

I.3.8 Récolte :

L'époque de la récolte de la plante a une importance primordiale sur les principes actifs de la plante, (Luc-Sallé,1991). Ce moment optimal varie, évidemment, selon les espèces de plantes, mais il dépend aussi de la partie à récolter, (Valent, 1983).

Pour la récolte des feuilles elle se fait plusieurs fois par an . La première récolte se fait au début de la floraison, la dernière pas trop tard en automne, (Thurzova et al, 1978) .

I.3.9. Composition chimique de la plante : La sauge renferme des huiles essentielles (thuyone, salviol, pinène, bornéol, cinéol, mycène, cimène, caryophyllène, humulène, camphre,...), tanins, principes amers, flavonoïdes, acide phénolique, saponine, substance œstrogène,... (**Baba-aïssa, 2011**). Elle contient aussi de la résine, des gommes, du mucilage, des acides phosphoriques, oxalique, des nitrates, de pentosanes, des traces d'asparagine (**Beloued, 2005**).

Le **tableau I** regroupe la composition générale de l'huile essentielle de sauge officinale trouvé par **Gilly, (2005)**.

Tableau I : Teneurs, %, des constituants majoritaires de l'huile essentielle de *Salvia officinalis L.*

Islande	Italie	Cuba	Serbie	Géorgie	Portugal	Espagne
α -thuyone 45,5 Camphre 15,9 β - thuyone 8,4 1,8- cineole 8,3	Camphre 26,8 α -thuyone 23 p-cymène 11,8 Pinocarviol 6,6	α humulène14,7 Viridiflorol 13,4 α -thuyone 12,9 β -thuyone 10,8	α -thuyone 22,1 1,8- cineole 16,2 α -humulène 11 β - Caryophyllene 6	athuyone 31,5 β -thuyone17,5 1,8-cinéol17,5	α thuyone22,8 1,8cinéol15,7 Viridiflorol 10,9	Camphre22,9 α thuyone20,6 β thuyone15,1 Bornéol 7,9
Brésil	Bulgarie	Turquie	Tchéquie	Hongrie	France	Roumanie
α -thuyone 24,8 1,8-cinéol 14,8 Borneol 11,1 Camphre 10,9	α -thuyone 21,5 1,8-cinéol 16,2 α - humulène 11,2 β -pinène 7,6	α -thuyone 29,4 β -thuyone 17,4 1,8-cinéol 12,5 Camphre 11,7	α -thuyone 25,1 Camphre 24,1 1,8-cinéol 11,9 α -humulène 6,9	Camphre 30,7 β -thuyone 17,6 1,8-cinéol 17 Camphene 4,4	Camphre 22 α -thuyone 20,9 1,8- cinéol 13,4	α -thuyone 21,8 Viridiflorol 11,7 Camphre 11,2 Manool 9,1

1.3.10. Propriétés thérapeutiques de la sauge :

Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *Salvia* vient de *salvare* qui, en latin, signifie «guerir » .

Des études ont révélé l'action bénéfique de la sauge dans la dégénérescence cérébrale à son stade précoce. Elle contribue à soulager le stress et l'anxiété, (**Chevallier, 2013**). et à faire baisser le taux de cholestérol (**Gladstar, 2013**), elle soulage les maux de gorge, (**Callery , 1998**).

La sauge se montre également fortifiante, réparatrice des troubles circulatoire (**Beloued, 2013**), cholagogue, tonifiante, stomachique, cholérétique ; emménagogue, anti-galactogène, antisudorale, astringente, cicatrisante (**Moussaoui, 2011**), détersive (**Baba aissa, 2011**), antioxydante, cette dernière propriétés ayant des applications culinaires puisqu'elle permet de retarder ou empêcher le rancissement des corps gras (**Botineau, 2011**), anti cancer, antiseptique (pour panser les plaies), hypoglycémiant, carminative, (**Valent, 1983**).

Grâce à sa teneur en flavonoïdes et à son huile essentielle, la sauge a une action antispasmodique sur l'appareil digestif.

Les cétones contenus dans son huile essentielle lui confèrent des propriétés bactéricides et antifongique, (**Béregère et al,2009**).

L'essence de sauge pure est également antibactérienne, (**Bartels, 1998**) (**Teuscher et al,2005**).

La sauge est aussi antioxydante et inhibe la peroxydation lipidique en raison de son contenu en phénols diterpeniques, en acide rosmarinique et en flavonoïdes qui agissent à la fois comme donneurs d'hydrogène et capteurs de radicaux libres, (**Teuscher et al, 2005**).

Usage médicinale :

Usage externe :

Infusion : prendre 1 à 2 cuillères des feuilles de la sauge , ¼ de litre d'eau , et chauffer progressivement, en boire 2 à 3 fois par jour, Ce remède soulage les inflammations des gencives et des amygdales, (**Jorek, 1983**).

Décoction : prendre une poignée de feuilles et fleurs pour un litre d'eau, faire bouillir pendant 10 mn, en bains de bouches (aphtes) en injections vaginales (pertes blanches) en compresses (ulcères, eczémas, dermatoses), (**Dellile, 2013**).

Usage interne :

Infusion : à raison de 1,5 g de feuilles dans une tasse d'eau bouillante, à faire infuser huit minutes. Cette préparation est efficace en cas d'inflammation des voies aériennes supérieures, contre la toux et la tuberculose (**Blot et Gouillier , 2013**), contre les ballonnements verser de l'eau bouillante a 1 cuillère à café de feuilles broyées par tasse, couvrir et laissez reposer 10 à 15 minutes , puis filtré et boire 3 à 4 tasses par jour, (**Hansel ,2008**) .

I.4.1 Définition des huiles essentielles :

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentées sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois, (**Pdrini et Lucheroni, 1996**).

La composition chimique des huiles essentielles est très complexe, les principaux constituants sont les terpènes, (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012**) .

Il faut une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huile essentielle, ce qui explique que ces dernières offrent une forte concentration en principes actifs, (**Sophie et Ehrhart, 2003**).

Les huiles essentielles ont généralement les mêmes propriétés que les plantes dont elles sont extraites, mais ce n'est pas toujours le cas, (**Folliard, 2014**) .

Elles sont indispensables à la vie des plantes et jouent un rôle de « médicament naturel ». Grâce à leurs huiles essentielles, les végétaux sont capables de résister seuls aux différentes agressions auxquelles ils sont soumis : maladies, insecte, soleil... Malgré son appellation d'huile, l'huile essentielle n'a rien à voir avec le corps gras, (**Lefief, 2012**).

I.4.2. Les caractères organoleptiques des huiles essentielles :

Les caractères organoleptiques sont des paramètres intéressants dans l'exigence de la qualité des huiles essentielles, (**Grosjean, 2004**) . On trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire (**Jacques et Paltz, 1997**), mais il en existe de colorées :

- En rougeâtre pour l'essence de cannelle
- En vert pour l'essence d'absinthe
- En bleu pour l'essence de camomille, (**Sallé, 1991**).

I.4.3 Role des huiles essentielles :

Selon **Belaiche (1979)** la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertique .

I.4.4 Bioactivité de quelques principes des HE :

Les effets et les réponses biologiques des extraits naturels sont en rapport direct avec les composés bioactifs des plantes, tel que :

-**Acétate de bornyl** : connu pour son activité antibactérienne, antispasmodique, antivirale, expectorant et sédatif, (**Teixeira, 2004**).

- **Camphre**: utilisé tant qu'analgésique. possède un effet allélopathique, antioxydant, fongicide et préventif, (**Teixeira, 2004**).

- **α thuyone**: ayant une activité antibactérienne, larvicide et insecticide, (**Svoboda et Hampton, 1999**).

- **1-8cinéol**: possède une activité antimicrobienne (**Svoboda et Hampton, 1999**)

I.4.5. La conservation des huiles essentielles :

Si elles sont entreposées correctement les huiles essentielles distillées de bonne qualité peuvent être conservées au moins 5 ans, voire plus, et les agrumes exprimés au moins 3 ans les huiles essentielles ne rancissent pas contrairement aux huiles végétales, (**Marnier, 2014**).

L'huile essentielle devra être conservée dans des flacons étanches de faible volume, en verres colorés (brun ou bleu), ou en acier inoxydable ou en aluminium, avec des bouchons inertes, sous atmosphère d'azote (**Raynaud, 2006**), ce qui les préserve de la lumière et de l'air. En effet, il importe d'éviter leur oxydation (à l'air) et leur polymérisation (à la lumière), (**Sallé, 1991**).

I.4.6 Les méthodes d'extraction :

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'une matière végétale selon diverses techniques : La distillation, L'expression, l'enfleurage, l'extraction et l'incision, (**Sallé, 1991**).

I.4.1.7 Distillation :

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur la caractéristique que possèdent ces composantes qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau en mouvement.

La vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles, une quantité suffisante de vapeur permet largement l'isolement des essences de plante, **(Bekhechi et Abdelwahid, 2010)**. Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe, hydrodistillation, hydrodiffusion et entraînement à la vapeur d'eau, **(Silou et al., 2004)**.

II.2.2. Hydrodistillation :

C'est le procédé le plus ancien. La plante aromatique (entière ou broyée) placée dans un alambic est immergée dans l'eau. Il est préférable d'utiliser une eau sans chlore contenant peu ou pas de calcium (eau de source, eau distillée). Portée à ébullition, l'eau à l'état vapeur en passant à travers le matériel végétal entraîne l'huile essentielle, elle est refroidie et condensée dans un serpentín. L'huile essentielle est séparée de l'eau par différence de densité dans un vase florentin, l'eau obtenue est une eau florale ou hydrolat aromatique, elle renferme des molécules aromatiques (moins de 5%), et est utilisée notamment chez les jeunes enfants et en cosmétologie, **(Raynaud, 2006)**.

II.2.3. Entraînement à la vapeur d'eau :

Le matériel végétal, dans ce cas se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, **(Bekhechi et Abdelwahid, 2010)**. La vapeur endommage la structure des cellules végétales, et aussi les molécules volatiles qui sont entraînées ensuite dans le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques : la matière végétale ne beigne pas directement dans l'eau bouillante, **(Fronchomme et Pénéol, 1990)**.

Notre stage s'est étalé sur une période de 3 mois, de février à mai 2016, dans les structures suivantes :

-Laboratoires de physicochimie, de microbiologie et toxicologie du groupe pharmaceutique Antibiotical de SAIDAL, Médéa.

-Laboratoire de microbiologie et de pharmaco-toxicologie de CRD (Centre de Recherche et de Développement) SAIDAL, El Harach, Alger

-Laboratoire de Microbiologie du service d'Hygiène de la wilaya de Blida

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel non biologique

Le matériel non biologique est représenté par les milieux de culture, les réactifs et l'appareillages est regroupé en **Annexe I**.

II.1.2. Matériel biologique

II.1.2.1. Matériel végétal

Notre étude a porté sur l'huile essentielle et l'extrait aqueux d'une plante à parfum très répandue en Algérie, la sauge officinale. Les feuilles et les tiges sont récoltées en début de matinée au mois d'Avril 2016

L'identité, la nomenclature et systématique de la plante ont été confirmées au niveau de l'ENSA (École Nationale Supérieure d'Agronomie) (Alger) en comparaison avec les spécimens de l'herbier.

L'huile essentielle de la sauge (*salvia officinalis*) [fig, 5] a été fournie par la société « Ziphee.Bio » spécialisée dans la production des HE et des engrais biologiques, sise à Lakhdaria (Bouira) [Fig, 7]. L'HE a été extraite à partir de la partie aérienne fraîche de la plante feuilles et tiges (mai 2015) [fig, 6]. Le matériel végétal provient des montagnes de Bouira. Le procédé d'extraction utilisé est l'entraînement à la vapeur d'eau conduit à échelle industrielle. Aussi, l'HE est certifiée « 100% naturelle » car n'ayant été additionnée ou mélangée à aucun solvant organique durant la phase de production. Elle a été conservée dans des flacons stériles teintés à 4°C et à l'abri de l'air et de la lumière, pendant toute la durée de notre travail, pour éviter d'éventuels phénomènes d'oxydation ou de contamination.

Toutes les données relatives aux conditions expérimentales de la plante utilisée et les caractéristiques pédoclimatiques de la région de récolte ainsi que la fiche technique de l'huile essentielle nous ont été fournies par la société en question.



Figure 5 : HE de *Salvia officinalis*

Figure 6 : *Salvia officinalis*

(Originale, 2006)



Figure 7 : Région de la culture de *salvia officinalis* (montagne de Lakhdaria . W Bouira)

(Originale, 2016)

II.1.2.2. Matériel animal

Pour les besoins de notre expérimentation, nous avons utilisé des lapins et des souris de laboratoire qui ont été élevés au niveau du laboratoire de pharmacotoxicologie, unité animalerie du complexe antibiotical- SAIDAL de MEDEA et du laboratoire pharmacotoxicologie de CRD (Centre de Recherche et de Développement) SAIDAL, ALGER

- Les lapins : 5 lapins de race Californienne , des deux sexes (mâle et femelle). Les lapins sont adaptés aux conditions répondant aux normes de stabulation ; pesant chacun 3 kg, ils sont utilisés pour évaluer l'activité hypoglycémiant de la sauge.
- Les souris : 12 souris de souche albinos (NMRI) de poids moyen 20g, utilisées pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire .

Les animaux (Lapins et souris) sont hébergés dans des cages solides en plastique. Ils disposent d'eau du robinet *ad libitum* et d'une alimentation granulée « O.N.A.B » (49.80% de glucides, 23.5% de protéines, 5% de lipides et 5.7 % de complexe minéral vitaminé) fourni par Antibiotical- SAIDAL de MEDEA et le laboratoire pharmaco-toxicologie de CRD (Centre de Recherche et de Développement) SAIDAL, Alger

Les animaux (Lapins et souris) sont acclimatés aux conditions de l'animalerie suivantes :

- ▲ Une température moyenne variante entre 20°C à 24° C.
- ▲ Une photopériode de 10 heures.
- ▲ Une humidité relative de 50%.

II.1.2.3. Micro-organismes

Pour mettre en évidence le caractère antimicrobien de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de *salvia officinalis*, nous avons utilisé 10 souches bactériennes et 6 souches fongiques (Tableau II) :

Tableau II : Liste des micro-organismes utilisés.

Souches Microbiennes	Référence	Gram
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6538	+
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	+
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC9372	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538	+
<i>Escherichia coli</i>	ATCC10536	-
<i>Escherichia coli</i>	ATCC8739	-

<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	-
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC9027	-
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC27853	-
<i>Sarcina lutea</i>	I.P	-
<i>Aspergillus braziliensis</i>	ATCC16404	Champignon
<i>Aspergillus braziliensis</i>	Champignon	Champignon
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	Levure
<i>Candida albicans</i>	ATCC2091	Levure
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC9763	Levure
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Levure	Levure

+ : Positif

- : Négatif

II.2. Méthodes expérimentales

Etude phytochimique

II.2.1. Traitements préliminaires des parties utilisées

- **Récolte** : nous avons cueillies 2 kg de feuilles et tiges (la partie aérienne).
- **Séchage** : les feuilles sont mises aux conditions de séchages à l'abri de la lumière et de l'humidité, à une température ambiante pendant 2 semaines afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules.
- **Broyage** : les feuilles sont d'abord broyées finement, jusqu'à l'obtention d'une poudre fine verdâtre.
- **Pesage** : la poudre de feuilles a été pesée à l'aide d'une balance de précision [Fig 12, Annexe I].



Figure 08 : Région de récolte Bouderbala (W.Bouira)
(Originale, 2016)

II.2.2. Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* :

Le travail a été réalisé au niveau du laboratoire de physico-chimie du groupe SAIDAL, Antibiotical MEDEA

II.2. 2. 1. Indices physiques

➤ **La densité relative (D_{20}^{20}) :**

Selon AFNOR , la densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport entre la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20°C à la masse d'un certain volume égale d'eau distillée à 20°C. La formule est :

$$D_{20}^{20} = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

M_1 =masse en gramme d'eau distillée

M_2 =masse en gramme d'huile essentielle

➤ **Indice de réfraction**

L'huile essentielle polarise la lumière à droite et à gauche. Selon la norme AFNOR l'indice de réfraction est le rapport entre le sinus d'angle d'indice, et celui du rayon lumineux de longueur d'onde déterminée.

Mode opératoire

Le produit est placé à l'aide d'une pipette dans la cellule de mesure jusqu'au trait signalé.

Refermer le couvercle, au bout de 15 secondes (temps nécessaire pour que l'appareil soit stabilisé à 20°C), puis lire le résultat. [Fig13, Annexe I]. (Pharmacopée Européenne, 2001).

II.2.2.2. Indices chimiques

➤ **Indice d'acide (I_A)**

Principe :

L'indice d'acide I_A est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présent dans un gramme de substance

Mode opératoire :

Dissolvez 10g de la substance à examiner ou la quantité prescrite par mg, dans 50 ml d'un mélange à volumes égaux d'alcool R et d'éther R. Le solvant doit être neutralisé au préalable par l'hydroxyde de potassium 0.1 M en présence de 0.5 ml de solution phénalpthaléine R1. Après dissolution, titrez par l'hydroxyde de potassium 0.1 M. Le titrage est terminé lorsque la couleur rose persiste pendant 15 s (Pharmacopée européenne, 2002)

$$I_A = 5,61 \times n / m$$

n : Volume de KOH 0.1M consommé.

m : Masse de la substance à examiner.

5.61 : constant.

➤ **Miscibilité à l'éthanol**

Une huile est dite soluble dans n volumes ou plus d'alcool d'un titre donné, si la solution dans n volumes demeure limpide, comparée à l'huile essentielle non diluée, après addition progressive de nouvelles quantités d'alcool de même titre jusqu'à concurrence de 20 volumes d'alcool (avec une température de 20°C) (**Pharmacopée Européenne, 2006**).

Mode Opératoire : Mélanger 1 ml d'HE avec 8 ml d'éthanol (l'ajout de l'éthanol se fait progressivement par des quantités identiques égales à 1 ml) et agiter à chaque fois.

➤ **Indice de saponification**

Dans une fiole de 250ml de verre borosilicate et d'un réfrigérant à reflux, introduire la prise d'essai. Ajouter 25ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0.5 N et quelques billes de verre. Adapter le réfrigérant et chauffer à reflux pendant 30 minutes sauf indication contraire.

Ajouter 1ml de solution de phénolphtaléine et titrer immédiatement par l'acide chloroformique 0.5N, (v_1 ml d'acide chlorhydrique 0.5N).

Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions (v_2 ml d'acide chlorhydrique 0.5N)

$$I_s = \frac{28.05(v_2 - v_1)}{p(\text{eng})}$$

(**Pharmacopée Européenne, 2001**).

I_s : Indice de saponification.

V_1 : Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour l'essai à blanc.

V_2 : Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour la détermination de l'indice.

P : Masse en gramme de la prise d'essai.

➤ **Indice d'ester**

L'indice d'ester est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présente dans 1 g de substance. Il est calculé à partir de l'indice de saponification (I_s) et de l'indice d'acide (I_A) (**Pharmacopée européenne, 2001**).

$$I_E = I_s - I_A$$

➤ **Karl –Fischer**

Karl Fischer est une méthode chimique de mesure de la teneur en eau d'un échantillon par titrage.

Elle est particulièrement adaptée au dosage de l'eau que contient un liquide, ou à la détection de traces d'eau.

Mode opératoire :

Ce mode opératoire est préconisé par la **Pharmacopée Européenne, (2001)**

- Brancher le titrimètre automatique Karl-Fischer.
- Remplir le cylindre de la burette et noter la position du robinet c'est-à-dire tourner le levier vers la droite et choisir la vitesse dv/dt entre 3 et 5.
- Remplir la burette de gauche de méthanol+la solution auxiliaire.
- Introduire le mélange dans le récipient de titrage.
- Titrer (neutraliser) avec une temporisation de l'arrêt de 20 secondes.
- Introduire l'échantillon.
- Régler la vitesse de l'agitation.
- Enfoncer brièvement le bouton « départ ».
- *la lampe « arrêt » s'éteint, le titrage se déroule automatiquement.
- *la lampe « arrêt » s'allume lorsque le point final est éteint.
- Le titrage est terminé.
- Relever la consommation ou réactif et calculer les résultats à partir du titre et de la pesée.
- Eteindre l'agitateur.
- Remplir les deux burettes (méthanol et réactif KF)

➤ Le pH

La concentration en ion H_3O^+ dans la solution est appelée puissance hydrogène ou pH, selon la relation :

$$\text{pH} = -\log(\text{concentration } \text{H}_3\text{O}^+). \text{ (Pharmacopée Européenne, 2008).}$$

Mode opératoire :

- La mesure du pH se fait par lecture directe au pH mètre du type METROHM [Fig 14, Annexe I].
- Prendre 5 ml d'échantillon (HE).
- Etalonner le pH mètre avant son utilisation à l'aide d'une solution tampon (au moins solution acide et neutre).
- Mesurer le pH de la préparation
- Lire directement la valeur au pH mètre
- Effectuer deux examens pour le même échantillon

II.2.3. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par CG- MS

L'analyse a été faite par le fournisseur de l'huile essentielle Société (Ziphee Bio) **tableau V [Annexe IV]**

II.2.4. Screening phytochimiques

Le but de screening est de mettre en évidence la présence ou l'absence des principaux métabolites secondaire.

Les tests sont réalisés soit sur la poudre, soit sur un infusé préparé avec 50 ml d'eau distillée bouillante sur 2g de poudre (**Bouquet, 1971**) et (**Moyse, 1976**).

- Les glucosides :

Quelques gouttes d'acide sulfurique concentré H_2SO_4 sont ajoutées à 2g de poudre.

Le développement d'une coloration rouge révèle la présence des glucosides.

- Les tanins :

Dans un tube à essai contenant 1 ml de l'infusé, on ajoute 5ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 3%. En présence des tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

- Les flavonoïdes :

Introduire dans une fiole 5 ml d'infusée, 5ml d'HCL, un coupeau de Mg et 1ml d'alcool isoamylique. L'ensemble est agité pendant quelques minutes.

La réaction donne une coloration rouge orangé en présence de flavonoïdes.

- Leuco anthocyanes :

2g de poudre sont portés au bain marie bouillant pendant quelque minutes dans 20ml d'un mélange de propanol/acide chlorhydrique (1/1).

Une coloration rouge se développe en présence des leuco anthocyanes.

- Mucilage :

A 1ml d'infusé, on ajoute 5ml d'éthanol absolu. L'obtention d'un précipite floconneux après agitation indique la présence des leuco anthocyanes.

- Les saponosides :

A 2ml d'infusé, on ajoute quelques gouttes d'une solution saturée d'acétate de plomb.

La formation d'un précipite blanc indique la présence de saponosides.

- Les alcaloïdes :

Faire macérer dans une bouteille en verre (Duran SCHOTT) 5g de poudre avec de l'ammoniaque 1/2 pendant 24h dans 50ml d'un mélange éther chloroforme (3/1). Le mélange obtenu est filtré. Ainsi, le filtrat est épuisé par 2ml d'acide chlorhydrique 2N.

Après injection de quelques gouttes du réactif de DRAGENDORFF, la présence d'alcaloïdes se manifeste par le développement d'un trouble ou d'un précipite dans la bouteille.

- L'amidon :

A 2g de poudre végétale on ajoute quelques gouttes d'Iode (I2). Une coloration bleue violette est obtenue en présence de l'amidon.

- Les terpènes :

Prendre 5ml d'extrait de 10%, mélanger avec 5ml d'acide phosphomolybdique et 5ml d'acide sulfurique concentré H₂SO₄ (96%) (**Gherib, 1988**).

II.3. Evaluation des activités biologiques :

II.3.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait aqueux

➤ Technique de l'aromatogramme (diffusion en milieu solide)

But et principe:

Le but de cette technique repose sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de huiles essentielle et de l'extrait aqueux des partie aeriennes.

Le principe consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-organismes mis en contact avec différents extraits, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, en utilisant des disques absorbants.

Mode opératoire :

A partir d'une culture bactérienne jeune de 18 heures, on réalise des suspensions en mettant quelques colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile, pour avoir une solution de 0.5 Mac Farland.

A partir d'une culture fongique jeune de 48 heures, on réalise des suspensions en diluants quelques colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile pour avoir une solution de 2 Mac Farland.

Sur des milieux de culture déjà préparés (Sabouraud pour les levures et Muller Hinton pour les bactéries), l'ensemencement est fait par écouvillonnage en couvrant toute la surface de la gélose contenue dans la boîte de Pétri.

A l'aide d'une pince stérile, on prélève un disc et on l'imbibe avec 25 µl d'huile essentielle ou l'extrait aqueux .Ce dernier est déposé à la surface de la gélose, on laisse diffuser sur la paillasse pendant 30min, puis on incube à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 30°C pendant 48 heures pour les levures.

L'estimation de l'activité antimicrobienne est basée sur une échelle de mesure mise en place par **Keshavarz et al. (1996)**. Ils ont classé le pouvoir antimicrobien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne, en 04 classes :

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 28mm.
- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 16 et 28 mm.

- Légèrement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone varie entre 10 et 16mm.
- Non inhibitrice lorsque le diamètre d'inhibition est inférieur 10mm.

➤ **Technique de microatmosphère (diffusion en phase vapeur)**

Nous avons utilisé cette méthode dans le but d'apprécier les propriétés inhibitrices de la phase volatile de l'HE.. La différence entre cette méthode et l'aromatogramme réside dans la position du disque imprégné. Ce dernier est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. De la même manière que l'aromatogramme, nous avons appliqué 3 doses croissantes en HE. En premier lieu, 20 ul d'HE est déposée sur un disque de papier filtre de 20 mm de diamètre. Dans le 2^{ème} essai, un disque de 40 mm a été imprégné par 40 ul d'HE alors que pour le dernier, un disque de 60 mm a été chargé par 60 ul d'HE. Le diamètre du disque diffère selon la quantité d'HE à imprégner afin d'obtenir un bon étalement et, par conséquent, une meilleure évaporation de l'HE.[Fig, 9,2]

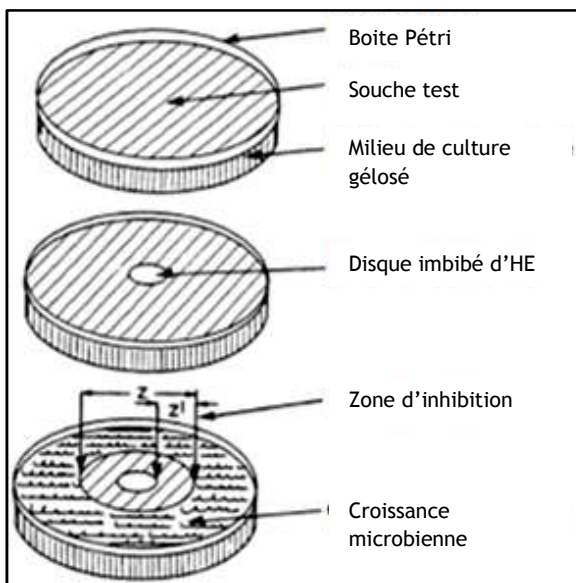


Figure 9.1. Illustration de la méthode de l'aromatogramme (Zaika, 1988)

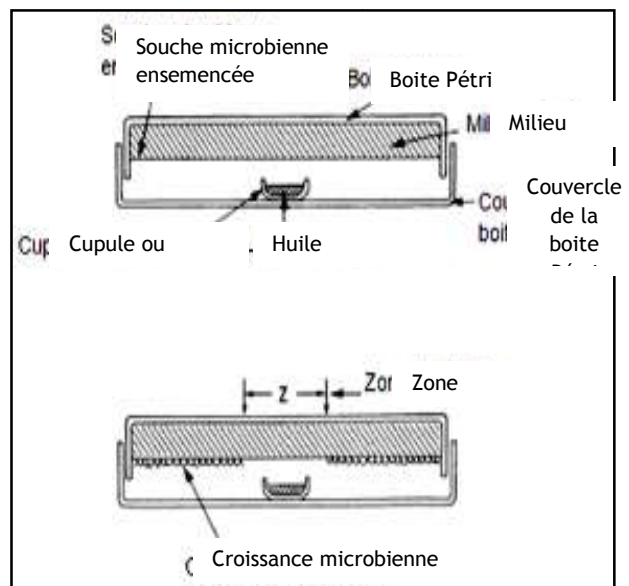


Figure 9.2. Illustration de la méthode de Microatmosphère (Zaika, 1988)

La préparation de l'inoculum, l'ensemencement, l'incubation et la lecture des résultats ont été menés de la même manière que la première méthode. La boîte est fermée avec le couvercle en bas et mise à température adéquate. Il se produit une évaporation des substances qui, en contact avec les germes ensemencés, va inhiber leur croissance. A la sortie de l'étuve,

l'absence de la croissance bactérienne se traduit par une zone translucide sur la gélose, de contour plus ou moins nette et à tendance circulaire.

II.3.2 Etude de l'activité hypoglycémiant de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*

L'étude a pour but d'évaluer l'effet hypoglycémiant de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. Il est mené conformément à la méthode de, **Lawson et al (1997)** , **Keita et al (1998)** et celle de **Halmi (2012)**. Les lapins sont soumis à un jeûn non hydrique préalable de 18h avant l'expérimentation.

Mode opératoire :

- Pour appliquer les traitements, les lapins sont répartis en 5 lots de 1 lapin :
 - ✓ Lots témoins :
 - **Lot 1** : c'est le lot témoin constitué d'un lapin ayant reçu uniquement 2g/kg de poids corporel de glucose par voie orale.
 - **Lot 2** : c'est le lot témoin constitué de lapin ayant reçu uniquement 2ml/kg de poids corporel d'huile végétale par voie orale.
 - ✓ Lots traités :
 - **Lot 3** : le lapin de ce lot a subi un traitement à base d'huile essentielle de *Salvia officinalis* avec une dose de 2.5 % de poids corporel.
 - **Lot 4** : le lapin de ce lot a subis un traitement à base d'huile essentielle de *Salvia officinalis* avec une dose de 5% de poids corporel.
 - **Lot 5** : le lapin de ce lot a reçu 4mg/kg de (Glibenclamide à 5 mg) administré 2h avant l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale, ceci, afin de faire coïncider le moment de l'activité maximale hyperglycémiant de la surcharge en glucose (4ml du glucose), ce lot constitue le lot référence.

Toutes les doses sont administrées 15 min avant l'administration de la surcharge en glucose.

- Le gavage est effectué à l'aide d'une seringue munie d'une sonde œsophagique.

La glycémie est déterminée par glucomètre à bandelettes par un glucomètre de type «Contour plus » [Fig 17, Annexe I]. À cet effet, une goutte de sang est prélevée à la veine marginale de l'oreille gauche de chaque animal toutes les 30 min, et déposée sur la bandelette au niveau de la zone « test » du glucomètre. Le taux de glycémie est affichée 45 sec après le dépôt de la

goutte de sang. Ce taux est suivi pendant 210min, soit 3,5h après l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale.



Figure 10 : Dispositif pour l'activité hypoglycémiant

(Originale,2016)

II.3.4 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et l'extrait aqueux

L'objectif de ce mode opératoire est de déterminer les étapes à suivre pour rechercher et contrôler l'activité anti-inflammatoire de l'HE et l'extrait aqueux de *Salvia officinalis*

Ce test a été réalisé selon la méthode de Levy cité par Colot (1972)

➤ Principe

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire des pattes gauches des souris, provoque une réaction inflammatoire (peut être réduite par un produit anti-inflammatoire)

Cette étude permet de comparer la réaction de l'œdème plantaire après l'administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant.

Protocole expérimental

Les souris ont été réparties en 4 lots de 4 souris :

- _ Un lot témoin
- _ Un lot référence
- _ Deux lots essaie

Au Temps 0 : l'administration aux 4 lots des suspensions suivantes :

Lot témoin : chaque souris reçoit 0.5ml d'eau distillée

Lot référence : chaque souris reçoit 0.5ml de déclofénac à 50 mg

Lot d'essaie : chaque souris reçoit 0.5ml de l'extrait

Au Temps 0 + 30min : injecter à tous les animaux 0.025ml de la solution de carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche

Au Temps 0 + 4h : sacrifier les animaux par réptture de la nuque

Couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et les peser sur une balance analytique

Calculer les poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot

Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'oedeme) de la forme suivante :

$$\% \text{ d'oedème} = \frac{\text{moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de la patte droite}}{\text{moyenne des poids de la patte droite}} * 100$$

Calculer le pourcentage de la réduction de l'oedeme chez les souris traitées par rapport aux témoins

$$\text{Pourcentage de la réduction de l'oedème} = \frac{\% \text{ de l'oedème témoin} - \% \text{ de l'oedeme référence}}{\% \text{ de l'oedème témoin}} * 100$$

Mise à jeun des souris 18 heures avant le test



Gavage des souris à l'aide d'une sonde de gavage de souris



Injection de la carraghénine dans la patte gauche



Sacrifier les souris et couper les deux pattes de chacune des souris



Peser les pattes gauches et droites



Figure 11 : Différentes étapes de l'activité anti-inflammatoire

(Originale,2016)

III.1. Résultats :

III.1.1. Résultats de l'étude phytochimique

III.1.1.1. Caractères organoleptiques

Les caractères organoleptiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* sont présentés dans le tableau III

Tableau III : Caractères organoleptiques de l' HE du *Salvia officinalis*.

Caractéristiques	Aspect	Couleur	Odeur	Saveur
He de <i>salvia officinalis</i>	Liquide	Incolore à jaune	Camphrée, un peu épicée	Piquante et amère
AFNOR (2000)	Liquide	Incolore à jaune	Camphrée, un peu épicée	Piquante et amère

Les paramètres organoleptiques de notre échantillon d'HE du *salvia officinalis* sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes **AFNOR (2000)**

III.1.1.2. Caractéristiques physico-chimiques des HE

Nos résultats sont dans l'ensemble conformes aux données de la littérature.

A- Caractères physico-chimiques

Nous avons effectué des analyses physico-chimiques complémentaires pour mieux connaître la nature, l'aspect, la densité, ... etc. de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.

Dans le tableau IV, nous avons regroupé les résultats des analyses physico-chimiques

Tableau IV : Résultats des analyses physico-chimique.

Propriétés physico-chimiques	Les résultats	(AFNOR, 2000)
Indice d'acide	1,75	1-2
Indice de saponification	10.05	Indéterminé
Indice d'ester	8.3	Indéterminé
Karl Fisher	0.25%	Indéterminé
p ^H	3 ,57	Indéterminé
La densité relative	0.924	0,897-0,930
Indice de réfraction	1,467	1,457-1,475

- **Densité relative**

L'huile essentielle de *salvia officinalis* présente une densité de 0.924. Cette densité est conforme à celle donnée par la **Pharmacopée Européenne (2007)** et la norme **AFNOR** dans l'intervalle [0,897-0,930], et aussi selon **Fellah et al ; (2006)**, **(Chabou et Kouaci, 2013)** et **(Legder, 2009)** qui ont trouvé une densité de 0.92.

- **Indice de réfraction**

En ce qui concerne l'indice de réfraction des huiles essentielles de *salvia officinalis* est égal à 1.467, il est conforme aux normes données par la **Pharmacopée Européenne (2007)** dans l'intervalle [1.465, 1.473], et avoisine les résultats obtenus par **Fellah et al ; (2006)**, **(Legder, 2009)** et **(Chabou et Couaci, 2013)** avec une valeur égale à 1.468 et 1.467 et 1.466 respectivement.

- **Karl-Fischer**

La teneur en eau dans l'huile essentielle de sauge est de 0.25%. Cette valeur est faible, elle traduit la bonne qualité de l'huile essentielle étudiée.

- **L'Indice d'acide**

L'indice d'acide de l'huile essentielle de sauge est égale à 1.75 Cette valeur est conforme aux normes de la **Pharmacopée Européenne, (2007)** qui signifie la valeur maximale 2, et proche de la valeur donnée par **Fellah et al ; (2006)** de 1.41 et **(Chabou et Couaci, 2013)** qui ont trouvé 1.139.

- **Indice de saponification**

L'indice de saponification de l'huile essentielle de sauge est de 10.05 il est proche de la valeur trouvé par **Chabou et Couaci (2013)** égale à 8.20.

- **Indice d'ester**

L'indice d'ester de l'HE de sauge est de 8.3. Ce résultat est similaire au résultats de **Fellah et al ; (2006)** et **Chabou et Couaci (2013)** qui présentent une valeur de 8.22 et de 7.067 respectivement.

- **Miscibilité à l'éthanol**

L'HE de sauge est miscible à un volume maximal égal à 1 ml, conformément aux valeurs de la **Pharmacopée Européenne, (2007)**, qui indiquent 1 ml à l'éthanol 80%.

- **pH :**

La valeur du pH est de 3.57 qui signifie que l'huile essentielle est acide, cette valeur est similaire à celle de **Fellah et al ; (2006)** est égale à 3.3.

III.1.1.3. Analyse de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* par CG/MS

Les résultats de la composition chimique de l'HE de *salvia officinalis*, déterminée par CG-SM, sont rapportés dans le **Tableau V (Annexe IV)**

Nous avons constaté que l'HE de la *Salvia officinalis* récolté à Bouira est constituée essentiellement de l' α -thujone (30.3%), Camphre (18.5%), le 1.8-Cinéole (11.8%), la composition chimique de l'huile essentielle de *salvia officinalis* nous a révélé que cette HE est caractérisée par de très fortes teneurs en monoterpènes oxygénés.

Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs auteurs (**Laghrifi et al, 2013**), (**Dob et al, 2007**), (**Lazeli et Benselma, 2007**). Un autre travail (**Legder, 2009**) a révélé aussi la prédominance de l' α -thujone (17.26%) dans l'huile essentielle de *salvia officinalis* provenant du jardin d'essai suivi par le 1.8-Cinéole et le camphre avec un taux de (13.54%) et (10.20%) respectivement. Aussi l'étude faite par **Ozcakmak et col ;(2012)** montre que l'huile essentielle de la *Salvia officinalis* cueillie en Turquie est composée essentiellement de l' α -thujone (24.92%), du 1,8-cinéol (11.53%), camphre (15.30%).

III.1.1.4. Screening phytochimique de la plante

La caractérisation phytochimique de la plante a pour but, de mettre en évidence la présence ou l'absence des métabolites secondaires. Les résultats sont rassemblés dans le **tableau VI**

Tableau VI : Résultat de la mise en évidence des composés chimiques.

Composé	Résultat
Anthocyanes	+
Leucoanthocyanes	+
Alcaloïdes	+
Saponosides	+
Flavonoïdes	+
Glycosides	+
Amidon	-
Tanin	+
Terpène	+

Le test phytochimique réalisé sur la poudre et l'infusé de *Salvia officinalis*, révèle la présence de plusieurs familles de composés bioactifs : glucosides, tanins, flavonoïdes, alcaloïdes,...etc.

Ces composés figurent dans la composition chimique de la sauge rapportées par **Beloued (2005)** ; **Gladester (2013)** **thurzova et al (1985)** et dont les plus abondants sont : les flavonoïdes, les glycosides, les alcaloïdes, les saponines, des tanins, et aussi la présence des terpènes, et leucoantocyane.

III.2. Résultats de l'étude des activités biologiques :

III.2.1. Activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait aqueux du *Salvia officinalis*, effectuée par 2 méthodes différentes (aromatogramme et microatmosphère), a été testée sur 16 souches. Les résultats sont consignés dans le **Tableau VII et tableau VIII**.

Pour le test microatmosphère, des quantités croissantes en HE ont été utilisées pour apprécier l'action « Dose-Dépendante » de l'huile du *Salvia officinalis*.

Tableau VII : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *salvia officinalis*

Méthode utilisée					
Arommatogramme(DZI,mm)		Microatmosphère(DZI,mm)			
Quantité Huile Essentielle (µl/disque)					
	Gram	25	20	40	60
Souches Bactériennes					
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6538P	+	17	20	40	60
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	+	22.5	54	64	90
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC9372	+	48	20	48	75
<i>Escherichia coli</i> ATCC10536	-	24	21	41	60
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	-	17.9	17	40	60
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	-	18.5	20	24	65
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC9027	-	12	/	/	/
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC27853	-	11	/	/	/
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538P	+	33	30	60	73
<i>Sarcina lutea</i> I.P	-	23	22	41	61
<i>Aspergillus braziliensis</i> ATCC16404	champignon	31	29.5	49.9	72
<i>Aspergillus braziliensis</i> L.H	champignon	24.5	21	41	61
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	Levure	20	25	73.5	78
<i>Candida albicans</i> ATCC2091	Levure	12	/	/	/
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC9763	Levure	18.5	10	44	62
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> miel	Levure	19.5	10	44	65

(/)Aucune zone d'inhibition ; DZI : Diamètre de la Zone d'Inhibition + positif ; - Négatif

III.2.1.1. Résultats de l'aromatogramme

L'HE de *salvia officinalis* a présenté, *in vitro*, une bonne activité inhibitrice sur la croissance de plusieurs souches bactériennes notamment sur les bactéries où les DZI obtenus oscillent entre 20 mm et 48 mm pour les disques imprégnés de 25µl d'huile essentielle (*Escherichia coli* ATCC10536, *Bacillus subtilis* ATCC9372, *Bacillus subtilis* ATCC10536 *Staphylococcus aureus* ATCC6538P, *Sarcina lutea* IP) » **Annexe I (Figure, 21)**

Ce pouvoir antibactérien des HE a été signalé par de nombreux travaux notamment ceux réalisés par **Longaray et al, (2007)** sur les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. de la

région du sud brésilien, qui ont provoqué des propriétés antibactériennes sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Ces résultats montrent aussi que l'huile essentielle de la sauge possède une très forte activité antifongique contre *Aspergillus brasiliensis* ATCC16404.

Selon **Raynaud (2006)** la sauge a également une activité antifongique sur *candida albican* due a son huile essentielle. Cette action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (**Mann et al., 2000**). En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (**Giordani et Kaloustian , 2006**) .Aussi d'après **Goetz (2012)** , une très grande variété d'HE est connue pour exercer des propriétés antimicrobienne et dans la plupart des cas ,cette activité est due à la présence de constituants actifs représentés principalement par des monoterpènes , sesquiterpènes ,des alcools ,et autres hydrocarbures et phénols et qui sont présents dans la composition chimique de notre plante.

Une étude **Hyldgaard et al., (2012)** fait apparaître que les essences aromatiques riches en composés oxygénés sont dotées d'un fort pouvoir antimicrobien.

III.2.1.2 Résultats de la microatmosphère

Un screening antibactérien de l'huile essentielle de *salvia officinalis* a été réalisé en microatmosphère pour apprécier l'efficacité inhibitrice de l'essence en phase vapeur. Les résultats de ce screening sont colligés dans le **Tableau VII**. En concordance avec les résultats obtenus en aromatoigramme, la phase vapeur de l'essence a exhibé une action inhibitrice sur la croissance de presque toutes les souches et notamment pour l'espèce *Bacillus subtilis* ATCC6633 avec un DZI de 54mm pour la faible dose (20ul) et une inhibition totale pour la dose (60ul) , Une action « dose-dépendante » **Annexe I (Figure, 22)** a été aussi notée pour toutes les souches testés .

Nos résultats sont accords avec ceux de la sauge de Serbie, d'Egypte. Selon **Pereda-Miranda et al. (1992)** et **Farag et al. (1989)** les huiles essentielles sont très actives contre les bactéries à gram positive (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) par rapport aux bactéries à gram négative (*Sarcina lutea*)

Yousef et Tawil, (1980), ont montré que les bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*) est moins active ou inactive avec une légère activité .

L'activité antimicrobienne des huiles essentielle est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs.(

Caillet et Lacroix ,2007)

D'après **Kustrak et Pepeljnjak, (1989)** sur l'effet antimicrobien de la sauge, sont indiquées que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* a une excellente activité grâce à la présence de 1-8 cinéol, cymène, le β - thuyone et le camphre.

Tableau VIII : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de salvia officinalis

Les souches microbiennes	Référence	Z. I a (10%)	Z. I a (20%)
<i>Bacillus ceureus</i>	ATCC9372	/	/
<i>Bacillus subtilus</i>	ATCC6633	/	/
<i>Bacillus subtilus</i>	ATCC6538P	/	/
<i>Escherichia coli</i>	ATCC10536	/	/
<i>Escherichia coli</i>	ATCC8739	/	/
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	/	/
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC9027	/	/
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC27853	/	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538P	11	/
<i>Sarcina lutea</i>	Institu Pasteur	/	/
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC16404	/	/
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Champignon	/	/
<i>candida albicans</i>	ATCC10231	/	/
<i>candida albicans</i>	ATCC2091	/	/
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC9763	/	/
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Levure	/	/

DZI : diamètre de zone d'inhibition.

Nous constatons d'après ce tableau que l'infusé « extrait aqueux » des feuilles de *Salvia officinalis* L., à différentes concentrations (10% et 20%) n'a exercée aucun effet antimicrobien sur les souches à étudiés, sauf sur la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 avec une zone d'inhibition de 11mm (légèrement inhibitrice).

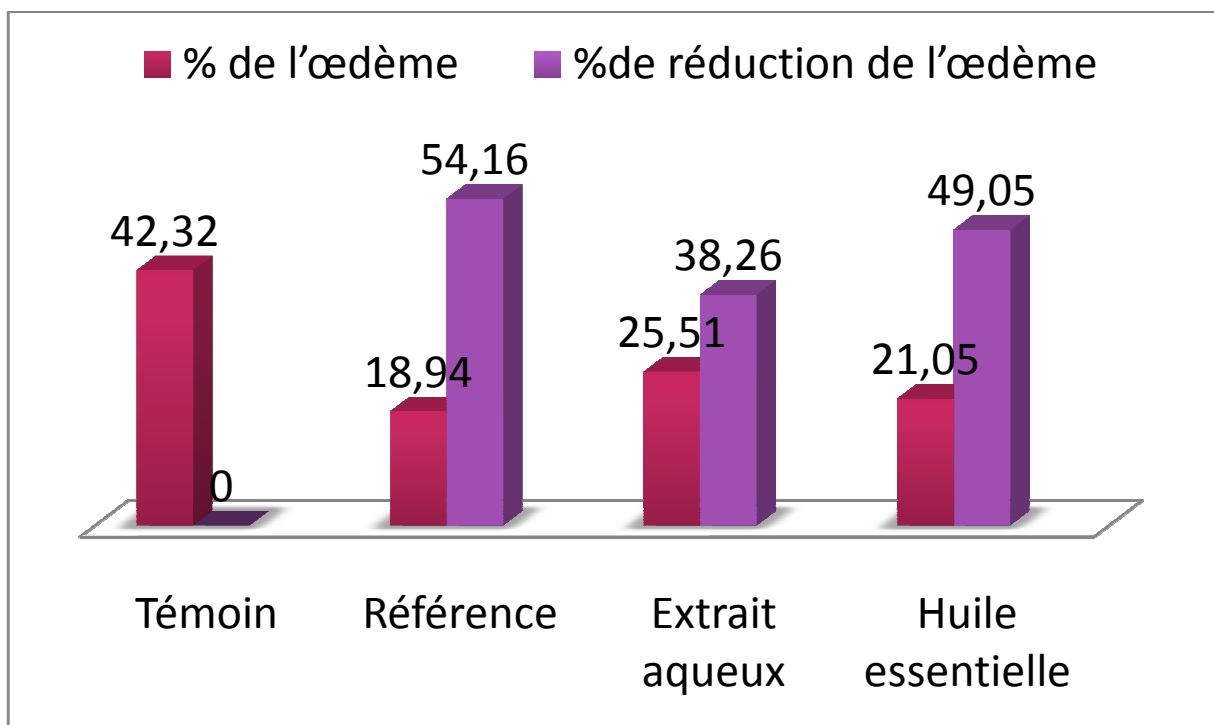
Les résultats montrent que l'extrait aqueux est faiblement actif sur les souches bactériennes et fongiques.

III.2 . 2 Résultats de l'activité anti-inflammatoire

Après administration des différents extraits à des souris chez lesquelles nous avons provoqué au préalable une inflammation par la carraghénine (1%) dans la patte postérieure gauche, on estime les poids des pattes postérieures (en g).

Les résultats obtenus sont indiqués dans les **Tableau IX et Tableau X** en **Annexe IV**

Figure : Pourcentage d'œdème et de réduction d'œdème pour les 4 lots traités



Après 30 minutes de l'administration de la carraghénine nous avons remarqué une augmentation de la moyenne du poids postérieures des pattes gauches, celles des quatre lots (lot témoin, lot référence et lot d'extrait aqueux et lot d'huile essentielle) comparativement à celui des pattes droites **tableau XI**

Cette différence d'augmentation s'explique par la présence d'un œdème au niveau des pattes postérieures gauches, ce qui confirme l'effet pro-inflammation de carraghénine

L'administration de Diclofénac à la dose de 50 mg/g per os prévient de façon significative l'augmentation du poids de la patte de souris. (54.16% de réduction) dans l'intervalle [30min, 210min]

Pour les animaux du lot traités par l'huile essentielle diluée à 1% une baisse très importante des œdèmes est observée au bout de 210 min (pourcentage de réduction 49,05%)

Pour les animaux du lot traités par l'extrait aqueux, nous remarquons une baisse des œdèmes moins importante comparativement au lot traité par l'huile essentielle (pourcentage de réduction 38.26%)

Selon **Raynaud, (2006)** Les huiles essentielles à alcool monoterpéniques (le bornéol, le linalol, l'alpha terpinéol...) ont une bonne activité anti-inflammatoire.

D'après les résultats obtenus, nous avons déduit que l'huile essentielle et l'extrait aqueux de *salvia officinalis* ont un effet anti-inflammatoire.

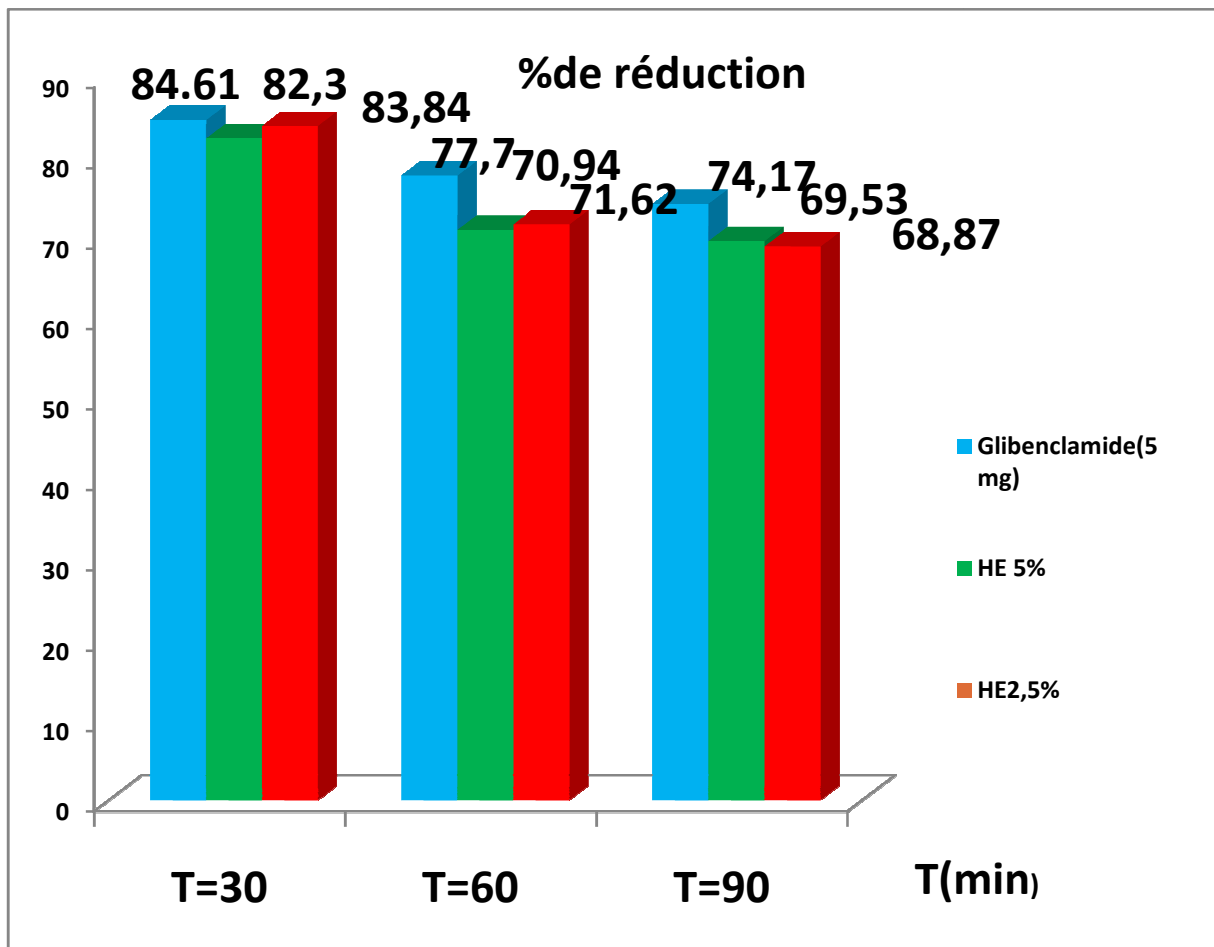
Nos résultats sont accordés avec ceux de **Chabou et Couaci, (2013)** qui ont mis en évidence le pouvoir anti-inflammatoire de la sauge.

III.2.3 . Activité hypoglycémiante

Notre étude a pour but d'évaluer l'activité hypoglycémiante, nous avons utilisées 5 lots différents, deux doses de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* à 2.5% et 5% comparés à celle du glibenclamide 5mg et un contrôle avec l'huile végétale et enfin un lot témoin ne contenant que du (D⁺) glucose. L'administration par voie orale sur les lapins albinos de sexe mélangé est de 2ml / kg du traitement.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau **XI (annexe IV)**

Figure : Résultats de l'activité hypoglycémiante de l'HE de *Salvia officinalis*



➤ **Lot 1 : (Lot témoin : glucose)**

- L'administration de 2g/kg de glucose entraîne en 30 minutes une augmentation significative de la glycémie allant jusqu'à 1.30
- à la 60è minute, la glycémie continue d'augmenter jusqu'à 1.48.
- à la 120è minute, la glycémie est à 1.27 soit une baisse de 97.69% par rapport à la 30è minute

➤ **Lot 2 (huile végétale)**

- L'administration du glucose entraîne une augmentation du taux de glycémie pouvant aller jusqu'à 1.44 à la 30è minute.
- De la 60è minute jusqu'à la 180è minute, les valeurs sont presque les mêmes, une baisse de la glycémie est égale à 1.17.

➤ **Lot 3 (glibenclamide 10mg)**

- 10 mg de glibenclamide provoque dès la 30è minute une baisse considérable de la glycémie, de 89.51% par rapport au lot témoin.

- à la 60^{ème} minute, la baisse est de 77.70% par rapport au lot témoin
- à la 90^{ème} minute, les lapins sont en état d'hypoglycémie avec une baisse de 74.17% par rapport au lot témoin.
- Cette hypoglycémie perdure à la 120^{ème} minute .

➤ **Lot 4 (huile essentielle à 2.5%)**

- 2.5% de l'huile essentielle abaisse la glycémie de 83.84% par rapport aux lapins soumis uniquement à la surcharge de glucose à la 30^{ème} minute.
- à la 60^{ème} minute, l'action est égale à 71.62%.
- à la 120^{ème} minute, nous observons que la baisse de la glycémie est continue par rapport au témoin à 81.10%.

➤ **Lot 5 (huile essentielle à 5%) :**

- 5% de l'huile essentielle abaisse considérablement la glycémie de 82.30% par rapport au témoin à la 30^{ème} minute.
- à la 60^{ème} minute, la baisse est peu significative; elle est de 70.94% par comparaison au témoin
- à la 120^{ème} minute, elle est de 1.1 cela veut dire une diminution du taux du glucose allant jusqu'à 80.31%.

Nous avons effectué un test hypoglycémiant chez les lapins, le taux du glucose a été très élevé chez le témoin pendant les deux heures de l'expérience, en revanche les lapins prétraités par l'huile essentielle de la sauge à la dose 2.5% et 5% montrent respectivement une réduction importante du glucose au bout de la première heure, comparable à celles des produits chimiques (glibenclamide) qui a réduit le taux du glucose au bout de la 30^{ème} minute.

A la lumière de ces résultats, nous estimons avoir atteint nos objectifs, en effet, nous avons pu montrer que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* est dotée de plusieurs activités remarquables. De ce fait, il serait très intéressant de réaliser des études complémentaires sur cette plante et de rechercher les molécules actives responsables des effets trouvés.

Conclusion générale

Dans le contexte de la valorisation des espèces végétales algériennes à caractère thérapeutique, nous nous sommes intéressées à l'étude de la sauge « *Salvia officinalis* L. » très répandue en Algérie

La qualité de l'huile essentielle a été évaluée par la détermination des indices physico-chimiques : indice d'acide (1.75) , indice de saponification (10.05), indice d'ester (8.3), P^H (3.57), Karl Fisher (0.25%), indice de réfraction (1.467), densité relative (0.924). Ces résultats montrent que cette dernière préserve ses propriétés physicochimiques et reflètent sa bonne qualité.

En outre, l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* évaluée par deux méthodes , diffusion sur gélose et micro-atmosphère a révélé que l'huile essentielle est très active contre les souches bactériennes *Bacillus subtilis* (ATCC9372), *Escherichia coli* (ATCC10536), *Staphylococcus aureus* (ATCC6538P) et la souche fongique *Aspergillus brasiliensis* (ATCC16404)

Par ailleurs, l'extrait aqueux est faiblement actif sur les souches bactériennes et fongiques.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire, nous a amené à déduire que l'huile essentielle de la sauge est très efficace contre les inflammations causées par la carraghénine, et que l'extrait aqueux possède une activité anti inflammatoire moins importante que celle de l'HE.

De même, l'HE de *Salvia officinalis* possède une activité hypoglycémiant importante chez les lapins, elle présente, en effet, une réduction significative du glucose.

A la lumière des résultats obtenus, le présent travail peut être considéré comme une source d'informations sur les propriétés physicochimiques, antibactériennes, anti-inflammatoire et hypoglycémiant de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de *salvia officinalis* L. cette plante locale est une source inestimable en divers composés doués des activités biologiques, ce qui témoigne et justifie son utilisation en médecine traditionnelle comme traitement à plusieurs pathologies.

Table de références

- **AFNOR**, 2000. Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6^{ème} édition. AFNOR, Paris.
- **Arnal-schubelen B., Goetz P., Paris M., 2007.** Phytothérapie : santé par les plantes .Sélection du Readev's Digest .Paris .
- **Baba-aissa F.**, 2011. Encyclopédie des plantes utiles. Almarifa. Alger .P330.
- **Bartels A.**, 1998. Plante des bassins méditerranéen .Eugen ulrner .Allmagne .P324 .
- **Beloued A.**, 2001. Les plantes médicinales d'Algérie. Office de publications universitaires. Alger. P195 ,196.
- **Beloued A.**, 2003. Les plantes médicinales d'Algérie. Office de publications universitaires. Alger. P159
- **Bekhechi Ch., Abdelwahid Dj.**, 2010. Les huiles essentielles. Office de publication universitaire Algérie. P 9, 10, 38, 39, 40, 41,42.
- **Belaïche P.**, 1979 .Traité de Phytothérapie et d'aromathérapie. Maloine. Paris.
- **Blot N., Gouillier J.**, 2013. Les plantes médicinales .Terre édition .France
- **B-Morin C.**, 2008. la phytothérapie pour les animaux : Mieux connaitre pour bien l'utiliser .Le manuscrit .Paris. P9.
- **Botineau M.**, 2011 .Guide des plantes médicinales .Belin .France .
- **Boulard B.**, 2001. Plante medicinales du monde. Fstem .Paris.
- **Bouquet M.**, 1971. Travaux et documents de l'Orstom. Paris.
- **Bruneton J.**, 2007. Plantes toxique : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 3^{ème} édition Lavoister. Paris. .P363.
- **Bruneton J.**, 2002. Phytothérapie, les données de l'évaluation. Tec et Doc. Paris. P 1.
- **Bruneton J.**, 2009. Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 4^{ème} édition Tec et Doc. Paris .P 378,381.
- **Cababet J.**, 1967 . Plantes pour soigner les animaux. Lavoisier, Paris. P106.
- **Callery E.**, 1998 . Le grand livre des herbes : un guide pratique l'altares et des vertus de plus de 50 herbes .Koneman .Paris .P112 ,113.
- **Chabou N et Kouaci I.**, 2013. Extraction et analyse physico-chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. (la sauge) Et étude de leurs activités

Table de références

- biologiques et l'activité antioxydante in vitro. Phytothérapie et santé. université saad dahlab.
- **Chamouleau A.**, 1979. Les usages externes de la phytothérapie. Maloine.Paris. P 53.
 - **Chevallier A.**, 2013 .Plantes médicinales. Grund. Paris.P 21,200.
 - **Colot.**, 1972. Notion technique de pharmacologie générale. Paris : Masson.
 - **Dellile L.**, 2013. Les plantes médicinales d'Algérie. BERTI 3^{ème} édition. Alger .P 240.

 - **Djerroumi A., et Nacef M.**, 2004.Plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P100-135 -131.
 - **Djarrouni A., Nacef M .,** 2013 .100 plantes médicinales d'Algérie .houma 2^{ème} édition. .P133 .
 - **Dob T., Berramdane T., Dahmane D., Abdelkader T., Chelghoum C.** 2007.Chemical composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from Algeria Chemistry of Natural Compounds, Vol.43, N°4.
 - **Eberhard T, Robert A, Annelise L,** 2005.Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris.
 - **Fellah.S, Romdhan.M, Abderraba.M.,** 2006.Extraction et étude des huiles essentielles de la *salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. Journal de la société Algérienne de chimie J.SOC.Alger. Chin.16°N2 ; PP193-202.
 - **Farag.RS, Badei.A.Z.M., Hewedi F. M., June.,** 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. Journal of the American Oil Chemists Society, Volume 66, Issue 6, pp 792-799.

 - **Folliard T .,** 2014 .Le petite Larousse des huiles essentielles .Larousse .Paris . P17.
 - **Francoise C .,** 2014. Se soigner avec les huiles essentielles .Solar .Espagne .P151.
 - **Fronchomme P., Pénoel D.,** 1990. Matière médicinale aromatique fondamentale, l'aromathérapie exactement. Royer jullois editeurs.Vol 4 ; P317-446.
 - **Fuinel G.,** 2002 .Arbres et plantes médicinales .Fernand Lanore .Paris .P18.
 - **Gherib A.,** 1998.Travaux pratique de chimie thérapeutique.

Table de références

- **Gilly G.**, 2005 .Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse (botanique, culture, chimie, production et marché) .L'Harmatton .Paris .P 259, 265.
- **Giordani R. Kaloustian J**, 2006. Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques Phytothérapie ; 3,121-124
- **Gladstar R.** ,2013.Cultiver et utiliser les plantes médicinales .Marabout .Espagne. P9, 95.
- **Goetz P ., Gahedir K .,** 2012.Phytothérapie anti infectieuse. Springer. Paris. P193.
- **Graham R.**, 2007. Encyclopédie des plantes vivaces. Gallimard. P 495.
- **Grience M.**, Amodern herbal,Vol II .
- **Grunwald J ., Janike C.**, 2006 .Guide de la phytothérapie : la thérapeutiques des plantes, la santé par les plantes, des conseils pratique .Marabout .Italie. P 341.
- **Halmi S.,Benlaksira B.**, 2012. Antihyperglycemic activity of prikly pear (Opuntia-ficus-indica) aqueus extract. Pharmacology and toxicology Laboratory.Veterinary department.Mentout Uneversity,Constantine.Algeria.Vol 2 N°3,PP540-543.
- **Hensel W .,** 2008. 350 plantes médicinales .Delachauxe et Nieste SA. Paris .P153.
- **Hyldgaard M., Mygind T., Meyer R. L.**, 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Front Microbiology, 3, 12. doi: 10.3389/fmicb.2012.00012
- **Jacques G et Paltz S.**, 1997. Le fascinant pouvoir des huiles essentielles.Fascicule du laboratoire «Jaque paltz »
- **Jorek N .,** 1983. Epices et plantes aromatiques .HATIER. Paris. TEC et DOC. Paris. P92, 123.
- **Kaloustian J., Hadji-Minaglou F,** 2012.La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Springer.Paris.
- **Keita.A., Mariko.E.,Haidara.,T.**1998.Etude de l'activité hypoglycémiante des feuilles de sclerocory Birria (A.Rich)Hotchst.(Anacardiaceae).Pharm.Med.Trad.Afr.Vol.10 ,PP :16-25

Table de références

- **Keshavarz E., Babiuk L., Gerson D. et Ceschiuhi M.J.,** 1996. Lignes directrices en matières de biosécurité en laboratoire ».Public Health Agency of Canada, 2^{ème} Ed.
- **Kustrak D., Pepeljnjak S.,** 1989. Antimicrobial activity of Dalmatian sage oil from different regions of the Yugoslav Adriatic coast. Acta Pharm. Jugosl., 39, 209–213.
- **Leclerc H .,** 1967 . Précis de phytothérapie par les plantes française .Masson .Paris .P 90, 91.
- **Laghrifi A., Lemrhari , Zouhair R., El idrissi M.,**2013. Compositions chimique de l’huile essentielle de *Sauge Officinale* L.
- **Lawson-Evi P., Eklu-Gadegbeku, K. Aklikokou.,** 1997. Activité hypoglycémiant de quelque plantes médicinales. Centre de recherche et de formation sur les plantes médicinales. Université de Bénin. Pharm. Méd. Trad.Afr., Vol.9 PP:60-69.
- **Lazli N., Benselma O.,** 2007. Extraction de l’huile essentielle de *Salvia officinalis* L. Projet de fin d’études, ENP, département génie chimique, Alger.
- **Lefief A .,** 2012.les huiles essentielles : guide pratique et conseils d’utilisation .ESI .Paris .P12, 19.
- **Legder I.,** 2009.Huile essentielle de *Salvia Officinalis* L. : extraction, composition chimique, propriétés physiques et antimicrobienne. Mémoire. L’Ecole Nationale des sciences Agronomique. El Harrach- Alger.
- **Longaray D, Ivete TMP, Liane A, et al .,** 2007. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in south Brazil. Food Chemistry 100:603–8
- **Mann C. M., Cox S. D., Markham J. L.,** 2000.The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributrs to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). Lett. Appl. Microbiol., 30: 294-297.
- **Martin P ., Laubirou P.,** 2014 . Les familles des plantes à fleurs d’Europe : botanique et utilisation. 2^{ème} édition Presse universitaire du nomex. Belgique.
- **McIntyre A.,** 2011. Le guide complète de la phytothérapie un manuel structure pour un savoir professionnel.Le courrier de livre .Paris .
- **Millet F.,** 2013.Le grand guide des huiles essentielles .Marabout. Espagne. P15.

Table de références

- **Moatti R et al .**, 1983 . La phytothérapie : thérapeutique différente. Maloine SA. Paris .P 113, 132.
- **Mohammedi.Z .**, 2006 . « Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelque plantes de la région de Tlemcen » ; thèse de magister ; université Abou bakr belkaid-Tlemcen.
- **Moussaoui M.**, 2011 .Plantes Médicinales de Méditerranée et d'Orient .SABIL. Espagne .P128 .
- **Moyse.RR, H., 1976.**Précis de matière médicale : pharmagnosie générale, pharmacognosie spécial : schizophites (bactéries),Actinmoycétales, thallophytes, ptéridophyte, spermatophytes.Ed : Masson. Paris.
- **Ozcakmak S., Dervisoglu M.and .,Yilmaz A., 2012.**African journal of microbiology research : Vol. 6(12) p. 3079-3084.
- **Raynaud J**, 2006.Prescription et conseil en aromathérapie .Tec&Doc. France .P6, 10.
- **Sallé J.**, 1991. Les huiles essentielles. Frison- Roche Paris. P 19, 23,167.
- **Sallé J.**, 1991.le totum en phytothérapie : Approche de phyto-biothérapie .Frison-Roche.Paris .P17, 234.
- **Scimeca D ., Tétau M .**, 2010.Le guide familiaile de phytotherapie le meilleur de la nature au service de votre santé.Alpen .P263 .
- **Silou T, Malanda, Loukaki L.**, 2004. Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de Cymbogon citratus grâce à un factoriel complet. Journal of Food Engineening. Vol 65 ; PP 219-223.
- **Sillberfedd et al .**, 2013 .Guide des plantes mellifères : 200 plantes de France et d'Europe .Delachaux et Nistlé .Paris .
- **Sophie S ., Eherhert N .**, 2003. Se soigner par les plantes .EYROLLES .
- **Stéphane Caillet, Ph.D., et Monique Lacroix, Ph.**, 2007.Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire.
- **Stumpf W.**, 2013.Rueconnaitre facilement les plantes médicinales : identifiatier, récolter, utiliser. Declachaux et nistlé .Paris .
- **Svoboda K, P., Hampson J, B.**, 1999. Bioactivity of essential oils of selected aromatic plants: antioxydant, anti inflammatory and other related pharmacological activities. Plants biology departement.Scotland UK; KA6 SHW.

Table de références

- **Teixeira J, A.**, 2004. Mining the essential oils of the midaeae. African, Journal of Biotechnology, 3(12), 706.
- **Teuscher E., Anton R., Lobstein A.**, 2005. Plantes aromatiques : épices, aromats, condiments et huile essentielles .Tec et Doc .Italie .P444 .
- **Thurzova L., Kesaneck I., Marreck S., Mika K.**, 1985. Plantes-santé qui poussent autour de nous .Brodas .P 7, 208.
- **Padrini F., Lucheroni M.T.**, 1996. Le grand livre des huiles essentielles. De vecchi .
- **Pelt J.M.**, 2001 .Les nouveaux actifs naturels. Ed. Marabout .Paris.
- **Pereda-Miranda, R., Hernández L. and López, R.**, 1992. A Novel Antimicrobial Abietanetype Diterpene from *Salvia albocaerulea*. *Planta Med.*, 58, 223–224.
- **Pharmacopée européenne.**, 2001. Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), troisième addendum de la troisième édition, Série des traités européens n°50, Strasbourg France.
- **Pharmacopée européenne.**, 2002. Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), quatrième édition. Tome 1 Série des traités européens n°50, Strasbourg France
- **Pharmacopée européenne.**, 2006. Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), cinquième édition, Série des traités européens n°50, Strasbourg France.
- **Pharmacopée européenne.**, 2007. Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), tome1, sixième édition, Série des traités européens n°50, Strasbourg France.
- **Pharmacopée européenne.**, 2008. Direction de la qualité du médicament du conseil d'Europe (DEQM), sixième édition. Tome 1 Série des traités européens n°50, Strasbourg France.
- **Porte A., Godoy R.L.O., Porte M.**, 2013. Chemical composition of sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil), v.15, n.3, p.438-441.

Table de références

- **Valent J .,** 1983 .Phytothérapie : traitement des maladies par les plantes .Maloine. Paris .P13, 81, 117.
- **Verbois S .,** 2015. La phytothérapie une synthèse de références illustrée pour découvrir les vertus et profiter des bienfaits des plantes .EYROLLES .Paris .
- **Wichtl M ., Anton.R.,** 2003.Plante thérapeutique : tradition, pratique, officinale, science et thérapeutique .Tec et Doc 2^{émé} édition. Paris.
- **Yousef, R.T., Tawil, G.G.,** 1980. Antimicrobial activity of volatile oils. Pharmazie, 1980, 35, 698–701.
- **Zaika, L.L.,** 1988. Spices and Herbs: their antimicrobial activity and its determination. Journal of Food Safety.

Matériel non biologique :

Tableau XI : Appareillage, Verreries, Réactifs et solution

Appareillage	Verreries et autres	Réactifs et solution
- Clevenger	-Béchers	-Acide chlorhydrique
-Bec benzen	-Boites de Pétri	-Acétat de plombe
-Balance de précision	-Coton	-Alcool isoamylique
-Balance analytique	-Disque en papier	-Acide sulfurique
-Bain marie	-Ecouillons	-Diethyl éther
-Etuve d'incubation	-Entonnoir	-Hydroxyde de potassium
-Plaque chauffante	-Eprovette	-l'eau distillé
-Vortex	-Fioles	-L'eau physiologique
-Réfrigérant	-Gants	-Caragénine à 1%
-Spectromètre de masse	-Micropipette automatique	-Réactif de Dragendroff
UV-VIS	-Papier aluminium	-Solution de glucose
-Hotte	-Papier filtre	-Diclofénac
-Pied à coulisse	-Pince stérile	
-Ultrason	-Pipette pasteur	
	-Pipette gradué	
	- Seringues	
	-Sonde de gavage	
	-Tubes à essais	



Figure 12 : Balance de précision (originale, 2016)



Figure 13 : Réfractomètre (Original, 2016)



Figure 14: P^H mètre (Originale, 2016)



Figure 15 : Fisher antibiotic zone reader



Figure 16: Bain marie (Originale, 2016)



Figure17: Glucomètre (Originale, 2016)



Figure18: Boîtes de Pétri et écouvillons



Figure 19: gavage des lapins (Originale, 2016)



Figure20: Vortex (Originale, 2016)



Escherichia coli ATCC10536



Saccharomyces cerevisiae ATCC9763



Sarcina lutea I.P

Figure 21: L'aromatogramme de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* (Originale, 2016)



Figure22 : Pouvoir antifongique de la phase vapeur de l'huile essentielle de *salvia officinalis* sur *Candida albicans* ATCC10231 (Originale, 2016)

A-Composition chimique des milieux de culture :

A-1- Milieux Muller Hinton :

Formule en g /l d'eau distillée :

Extrait de viande.....	03
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5
Amidon.....	1,5
Agar.....	16

PH=7,3

A-2- Milieux gélosé aux peptones de caséine et de soja(TSA) :

Peptone pancréatique de caséine.....	15g
Peptone papaique de soja.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Gélose.....	15g
Eau purifiée.....	1000ml

-Ajustez le PH pour qu'il soit de 7,3+/-0,2 à 25C° après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle valide.

A-3-Milieux sabouraud dextrosé-gélosé :

Dextrose.....	40g
Mélange de peptone peptique de tissu animal et de peptone pancréatique de caséine (1 :1).....	10g
Gélose.....	15g
Eau purifiée.....	1000ml

-Ajustez le PH pour qu'il soit de 5,6+/-0,2 à 25C° après stérilisation. Stérilisez à l'autoclave selon un cycle valide.

Annexe III

A-Préparation de l'extrait aqueux :

A-1-Préparation de l'extrait aqueux à 10%:

10g de MV \longrightarrow 100 ml d'eau distillé bouillante

A-2-Préparation de l'extrait aqueux à 20%:

20g de MV \longrightarrow 100 ml d'eau distillé bouillante

B-Etude de l'activité anti-inflammatoire:

B-1- Préparation de la solution caraghénine 1% :

Pesez 1g de la caraghénine, on ajoute quelques gouttes des tween 80 , dissoudre le mélange dans un 100 ml de l'eau distillé.

1g \longrightarrow 100ml

C- Etude de l'activité hypoglycémiant:

❖ A la dose 2.5%:

2.5 ml	\longrightarrow	100ml	}	0.2 ml HE + 7.8 ml HV
X	\longrightarrow	8ml		

❖ A la dose 5% :

5 ml	\longrightarrow	100ml	}	0.4 ml HE + 7.6 ml HV
X	\longrightarrow	8ml		

HE : huile essentielle.

HV : huile végétale.

MV: Matière Végétale

Tableau IX : Evolution moyenne de poids des pattes postérieures gauches et droites des souris de chaque lot.

lots	Lot témoin		Lot référence (Diclofénac)		Lot d'essai « huile essentielle »		Lot d'essai « extrait aqueux »	
	Droite	Gauche	Droite	Gauche	Droite	Gauche	Droite	Gauche
1	0,122	0,195	0,114	0,128	0,143	0,130	0,142	0,133
2	0,134	0,172	0,108	0,117	0,107	0,128	0,107	0,129
3	0,121	0,190	0,077	0,110	0,107	0,117	0,119	0,123
4	0,111	0,164	0,109	0,105	0,109	0,112	0,017	0,120
5	0,125	0,157	0,089	0,110	0,089	0,110	0,089	0,119
6	0,114	0,152	0,078	0,108	0,015	0,093	0,016	0,118
Moyen	0,121	0,171	0,095	0,113	0,095	0,115	0,098	0,123

Les résultats rapportés dans le **Tableau X** montrent les variations du pourcentage de réduction de l'œdème des différents essais (T+ , HE EA), en comparaison avec le contrôle négatif (lot traité avec de l'eau physiologique).

Tableau X : Pourcentages de réductions des œdèmes dans chaque lot

lots	Pourcentage d'œdème	Pourcentage de réduction d'œdème
T-	42,32%	-
T+	18,94%	54,16 %
EA	25,51%	38,26 %
He	21,05%	49,05 %

T- : Témoin négatif (eau physiologique, 0.9% NaCl) ; T+ : Témoin positif : (Diclofénac,) He : Huile Essentielle