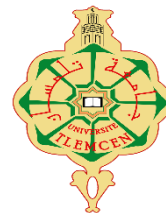


REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ ABOU BAKER BELKAID DE TLEMCEEN
FACULTÉ SNV – STU DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Projet de Fin d'Études en Master 2

Option biochimie appliquée

**Etude de l'effet synergique entre l'huile essentielle de
l'Aloysia citrodora et un antibiotique contre des souches
bactériennes, et évaluation de ses activités antioxydante, et
anti-inflammatoire.**

Réalisé par :

Achour Tani Nabila et Abbou Riheb Radjaa

Encadré par :

Dr. MELIANI Nawel

Effectuer en :

**Laboratoire des substances naturelles et bioactives LASNABIO, et
Laboratoire antibiotiques, antifongiques, physico - chimie, synthèse et
activités Biologiques**

Soutenue le : 29\06\2025 devant le juré d'examen composé de :

Dr. MELIANI Nawel

Encadrante

Pr. BENARIBA Nabila

Presidente

Dr. MEDJDOUB Houria

Examinatrice

Année universitaire : 2024\2025

Remerciements :

Au nom d'Allah, merci dieu le tout-puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la volonté nécessaires à l'achèvement de cette œuvre. La réalisation de ce mémoire a été une étape clé de notre parcours, et nous souhaitons exprimer notre sincère gratitude envers les personnes qui nous ont accompagnés tout au long de ce projet.

Nous tenons tout d'abord à adresser un immense merci à Mme. MELIANI Nawel, notre encadrante, pour son accompagnement précieux et ses conseils éclairés tout au long de l'élaboration de ce mémoire. Son expertise et sa disponibilité ont été déterminantes pour la réussite de ce projet.

Nos remerciements s'adressent également à Pr. BENARIBA Nabila, la responsable de formation de master biochimie appliquée au département de biologie, pour son rôle essentiel dans notre formation et pour son soutien indéfectible. Savoir que nous pouvions compter sur vous a fait toute la différence.

Un grand merci à Mme. MEDJDOUB Houria, et à Mme. BEKHECHI Chahrazed pour son montage d'hydrodistillation, et à tous ce qui nous ont guidés et soutenus pour la réalisation de ce mémoire, et nous avons beaucoup appris à vos côtés.

Nous exprimons notre plus profonde gratitude à nos parents pour leur amour inconditionnel et leur soutien indéfectible, qui nous ont accompagnés et motivés tout au long de notre carrière.

Enfin, un grand merci à nos amis pour leurs précieux encouragements.

Merci à tous.

Dédicaces :

En préambule, je remercie ALLAH, qui m'a guidée et m'a donné la force, la patience et le courage d'accomplir ce projet.

À mes parents, mes héros silencieux

Papa,

Ma force, mon héros... merci d'avoir toujours été là. Tes prières ont été mon bouclier contre le découragement. Tes sacrifices silencieux ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Ton regard fier sur mes livres fatigués valait tous les diplômes. Tes "Je sais que tu peux", lancés comme des évidences, ont fait germer l'impossible.

Maman,

Ton sourire était ma lumière quand les nuits d'étude s'éternisaient. Tes mains jointes en prière, mon rempart contre le doute. Ta voix douce murmurant "Allah maâk" a bercé mes efforts. Quand je trébuchais, ton silence plein de confiance disait : "Relève-toi." Tu as transformé chaque café trop sucré, apporté à 3h du matin, en élixir de courage.

À mon frère AYMEN et mes sœurs KHAWLA et AYA Merci pour vos mots réconfortants : "Inch'Allah tu vas y arriver", pour votre présence silencieuse, vos encouragements sincères et votre amour discret mais inestimable.

À mon professeur M. YKHLEF

Merci d'avoir cru en moi avant même que je ne croie en moi-même. Vos critiques constructives ont affiné ce travail, Vos encouragements ont fait fleurir mes idées. Vous n'êtes pas qu'un enseignant : vous êtes un guide pour la vie.

À mes amies AYA, MERIEM, MOUNA, MANEL, ASMAA, CHAIMAA, ZOHRA, RANIA, NESRINE

Merci pour les fous rires partagés, les cafés à minuit devant la fac, et ces simples mots si puissants : "On est avec toi." Vous êtes bien plus que des camarades : vous êtes une famille.

À mon binôme NABILA

Je te dédie ce travail avec une immense gratitude et une profonde émotion. Merci pour ton écoute, ta patience, ton soutien sans faille. Merci pour les fous rires, les longues soirées d'étude, et pour avoir su transformer chaque moment de stress en une victoire partagée. Ce travail est le reflet d'une belle collaboration, mais surtout d'une belle amitié. Je suis fière d'avoir vécu cette aventure avec toi.

À moi-même,

Pour ces moments où j'ai voulu tout abandonner, mais où je me suis relevée avec un sourire et un café serré. Cette réussite est la mienne.

Radjaa.

A mes chers parents, les piliers de ma vie, pour votre amour inconditionnel, vos sacrifices, votre soutien indéfectible et vos encouragements qui ont été le socle de toutes mes réussites. Cette étape est le fruit de votre dévouement.

A Maroua, ma meilleure amie et ma confidente, merci d'être une épaule solide, merci pour tes encouragements et d'avoir cru en moi même quand je doutais. Ta présence a rendu mon parcours bien plus beau. Cette réussite est aussi la tienne.

A Nihel, ma première confidente et ma sœur, merci pour ta présence, pour nos liens unique et indéfectible, pour ton écoute sans faille. Merci d'être une constante source de soutien, votre amitié sincère m'a toujours renforcé.

A Chaimaa, Aya, Meriem, Mouna, Hadjer, Rania, Nesrine, Zohra, et tous mes amis. Merci pour votre soutien et votre compréhension. Les rires partagés et les bons moments qui ont rendu ce parcours plus léger. Votre amitié est un trésor.

Et en fin, à mon binôme, mon énergie positif, Radjaa, pour nos heures de travail acharné, nos discussions, nos doutes partagés et nos solutions trouvées ensemble. Merci d'être un soutien indéfectible, une source d'amour et de la joie. C'est ensemble que nous avons relevé ce défi, cette réussite est le fruit de notre complémentarité.

Nabila.

Table des matières

Résumé	1
Introduction.....	4
Partie I : synthèse bibliographique	7
Chapitre 1 : la phytothérapie et la verveine odorante.....	7
La phytothérapie.....	8
La verveine odorante.....	9
Chapitre 2 : les activités biologiques, les bactéries et les antibiotiques.....	18
Les activités biologiques.....	19
Les bactéries et les antibiotiques.....	24
Chapitre 3 : les huiles essentielles.....	33
Partie II : étude expérimentale	42
Chapitre 1 : matériel et méthodes.....	43
Chapitre 2 : résultats	55
Chapitre 3 : discussion	66
Conclusion.....	74
Références	76
Annex.....	84

Liste des figures

Figure 1 : la verveine odorante et officinale.....	11
Figure 2 : réaction de la réduction du DPPH par un antioxydant.....	20
Figure 3 : réaction de réduction par la méthode de FRAP.....	20
Figure 4 : organisation d'une cellule procaryote.....	24
Figure 5 : quelques formes et modes d'association des bactéries.....	24
Figure 6 : Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des huiles essentielles.....	36
Figure 7 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des huiles essentielles.....	36
Figure 8 : Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des huiles essentielles.....	37
Figure 9 : appareillage de l'hydrodistillation.....	45
Figure 10 : réduction du radical DPPH pour les différentes concentrations.....	48
Figure 11 : réduction d'ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) FRAP pour les différentes concentrations.....	49
Figure 12 : Méthode de la diffusion sur disque.....	51
Figure 13 : le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait sec brut de l' <i>A. citrodora</i>	57
Figure 14 : le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations d'huile essentielle de l' <i>A. citrodora</i>	58
Figure 15 : le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations d'acide ascorbique.....	58
Figure 16 : le pouvoir réducteur de l'huile essentielle d' <i>A. citrodora</i> par la méthode de FRAP.....	59
Figure 17 : le pouvoir réducteur de l'extrait sec brut d' <i>A. citrodora</i> par la méthode de FRAP.....	60
Figure 18 : le pouvoir réducteur de l'acide ascorbique par la méthode de FRAP.....	60

Figure 19 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>A. citrodora</i>	61
Figure 20 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de différentes concentrations de l'extrait sec brut d' <i>A. citrodora</i> dilué dans l'eau distillé.....	61
Figure 21 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de différentes concentrations de l'extrait sec brut d' <i>A. citrodora</i> dilué dans l'éthanol.....	62
Figure 22 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de différentes concentrations du diclofénac.....	62
Figure 23 : effet antibactérien de la Gentamicine sur les bactéries <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	63
Figure 24 : effet antibactérien de l'extrait d' <i>A. citrodora</i> sur les bactéries <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	64
Figure 25 : effet antibactérien de l'hydrolat d' <i>A. citrodora</i> sur les bactéries <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	65
Figure 26 : effet synergique de l'huile essentielle d' <i>A. citrodora</i> avec la Gentamicine sur les bactéries <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	65

Liste des tableaux

Tableau 1 : classification botanique de la plante <i>Aloysia citrodora</i>	10
Tableau 2 : les principales différences entre la verveine odorante et la verveine officinale.....	11
Tableau 3 : les différents organes de la verveine odorante.....	12
Tableau 4 : Dénominations vernaculaires internationales.....	14
Tableau 5 : Principaux constituants des huiles essentielles d' <i>Aloysia citrodora</i>	13
Tableau 6 : classification bactérienne de l'espèce <i>E. coli</i>	25
Tableau 7 : classification bactérienne de l'espèce <i>P. aeruginosa</i>	26
Tableau 8 : classes, structures et mécanismes d'action des antibiotiques.	30
Tableau 9 : Quelque composants des huiles essentielles.....	38
Tableau 10 : avantages et inconvénients de différentes méthodes d'extraction.....	40
Tableau 11 : Souches bactériennes utilisées dans le test antibactérien.....	43
Tableau 12 : résultats de différents tests phytochimiques de l'extrait sec brut de l' <i>A. citrodora</i>	56
Tableau 13 : les valeurs des IC50 de l'extrait et l'huile essentielle d' <i>A. citrodora</i> et de l'acide ascorbique.....	59
Tableau 14 : effet antibactérien de la Gentamicine sur les bactéries <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	63
Tableau 15 : effet antibactérien de l'extrait d' <i>A. citrodora</i> sur les bactéries <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	64
Tableau 16 : effet antibactérien de l'hydrolat d' <i>A. citrodora</i> sur les bactéries <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	64
Tableau 17 : effet synergique de l'huile essentielle d' <i>A. citrodora</i> avec la Gentamicine sur les bactéries <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>	65

Liste des abréviations

A. citrodora : *Aloysia citrodora*.

ARP : pouvoir antiradicalaire.

ATB : antibiogramme.

ATCC: American Type Culture collection

BSA: Bovin Solution albumin

°C : degré Celsius.

CMB : concentration minimale bactéricide.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

DMSO : dimethylsulfoxyde.

DO : densité optique.

DPPH : 2,2-di(4-tert-octylphenyl) - 1-picrylhydrazyl.

E. coli: *Escherichia coli*.

FeCl₃: chlorure ferrique.

FRAP: ferric reducing antioxidant power.

HEs : huiles essentielles.

IC₅₀ : la concentration inhibitrice à 50 %

K₃Fe (CN)₆: ferricyanure de potassium.

MH : Mueller Hinton

NaCl : chlorure de sodium

NaOH : hydroxyde de sodium

OMS : organisation mondiale de la santé.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

PBS : tampon phosphate saline

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SM : solution mère.

TCA : acide trichloroacétique.

ROS : espèces réactives de l'oxygène.

RNS : espèces réactives de l'azote.

Résumé

Résumé

Ce travail a été réalisé au sein des laboratoires de recherche en biologie et en chimie de l'Université Abou Bakr Belkaid, durant l'année universitaire 2024-2025. Il porte sur l'étude des activités biologiques de l'huile essentielle et de l'extrait brut d'*Aloysia citrodora*, une plante médicinale appartenant à la famille des Verbénacées.

L'analyse phytochimique a révélé la présence de flavonoïdes, de tanins, d'alcaloïdes et de saponines. Le rendement en huile essentielle était de 0,412 %, et celui de l'extrait sec brut de 5,97 %. Les tests antioxydants (DPPH et FRAP) ont mis en évidence une bonne capacité antioxydante. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la méthode d'inhibition de la dénaturation de l'albumine.

Par ailleurs, l'huile essentielle a montré une activité antimicrobienne significative contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, deux souches bactériennes, contrairement à l'extrait brut, qui n'a pas présenté d'effet inhibiteur. Une combinaison synergique de l'huile essentielle avec la gentamicine a également démontré une efficacité accrue contre *Escherichia coli*.

Abstract

This study was conducted in the biology and chemistry research laboratories of Abou Bakr Belkaid University during the 2024-2025 academic year. It focuses on investigating the biological activities of the essential oil and crude extract of *Aloysia citrodora*, a medicinal plant belonging to the Verbenaceae family.

Phytochemical analysis revealed the presence of tannins, alkaloids, and saponins. The essential oil yield was 0.412%, while the crude extract yield was 5.97%. Antioxidant tests (DPPH and FRAP) demonstrated significant antioxidant capacity. The anti-inflammatory activity was evaluated using the bovine serum albumin denaturation inhibition method.

Furthermore, the essential oil exhibited significant antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, two bacterial strains, unlike the crude extract, which showed no inhibitory effect. A synergistic combination of the essential oil with gentamicin also demonstrated enhanced efficacy against *Escherichia coli*.

ملخص

تم إنجاز هذا العمل داخل مخابر البحث في البيولوجيا والكيمياء بجامعة أبو بكر بلقايد خلال السنة الجامعية 2024-2025. ويتناول دراسة الأنشطة البيولوجية للزيت العطري والمستخلص الخام لنبات

Aloysiacitrodora، وهي نبتة طبية تنتمي إلى فصيلة **الفرسينيات Verbenaceae**

كشفت التحاليل الفيتوكيميائية عن وجود مركبات التانينات، القلويدات، والصابونينات. بلغ مردود الزيت العطري 0.412%، بينما بلغ مردود المستخلص الجاف الخام 5.97%. أظهرت اختبارات مضادات

الأكسدة DPPH و FRAP قدرة جيدة على مقاومة التأكسد. كما تم تقييم النشاط المضاد للالتهاب باستخدام طريقة تثبيط تخثر الألبومين من جهة أخرى، أظهر الزيت العطري فعالية مضادة للميكروبات ضد الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) والزائفة الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*)، وهما سلالتان بكتيريتان، بخلاف المستخلص الخام الذي لم يُظهر أي تأثير مثبط. كما أظهرت التركيبة التآزرية بين الزيت العطري والجنتاميسين فعالية أكبر ضد *Escherichia coli*.

Mots clés

Aloysia citrodora, activité antioxydante, activité antiinflammatoire, synergie.

Introduction

Introduction générale

Les maladies infectieuses représentent une menace mortelle, constante dans notre existence (Charles Nicolle, 2013). On utilise fréquemment les antibiotiques pour lutter contre les infections bactériennes, ceux-ci peuvent être d'origine naturelle ou issu de synthèse en laboratoire. Le terme antibiotique fait références à une substance produite par un micro-organisme pour inhiber ou arrêter la croissance d'un autre micro-organisme (Anu Singh Cundy, 2017).

Cependant, l'usage abusif et incorrect de ces médicaments a entraîné l'émergence croissant de résistances bactériennes aux antibiotiques, devenues aujourd'hui l'une des menaces les plus sérieuses pour les traitements infectieux, avec des répercussions directes sur la mortalité et la morbidité. L'organisation Mondiale de la Santé (OMS) insiste d'ailleurs sur le besoin urgent de découvrir de nouvelles réponses pour gérer cette crise (Campbell, 2017).

Dans ce contexte l'exploration de stratégies alternatives devient essentielle. Parmi celles-ci, la combinaison d'antibiotiques avec des substances naturelles comme les huiles essentielles suscite un intérêt croissant. Ces extraits concentrés de plantes aromatiques renferment une multitude de composés bioactifs aux propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, mais aussi anti-inflammatoires (Bouyahya A., 2017).

Les huiles essentielles sont des extraits concentrés de plantes aromatiques, contenant une grande variété de composés bioactifs. L'huile essentielle de *Aloysia citrodora* a suscité l'intérêt grâce à son riche profil chimique, en particulier en citral, limonène et géraniol. Ces molécules qui sont reconnues pour leurs effets antibactériens, leur capacité à piéger les radicaux libres, et leur rôle potentiel dans la modulation des processus inflammatoires. De nombreuses recherches ont démontré l'effet synergique de certaines huiles essentielles en conjonction avec des antibiotiques, ce qui renforce leur efficacité face à des souches bactériennes résistantes. De plus, le stress oxydatif, qui découle d'un déséquilibre entre la génération de radicaux libres et les mécanismes antioxydants du corps, joue un rôle dans plusieurs affections chroniques, y compris les maladies inflammatoires. Ce stress entraîne des dommages cellulaires, l'activation de réactions inflammatoires et l'aggravation de diverses conditions.

L'un des objectifs de ce travail est donc d'étudier la synergie entre l'huile essentielle de *Aloysia citrodora* avec un antibiotique, dans le but de vérifier si cette combinaison peut offrir une alternative thérapeutique contre des souches bactériennes résistantes. Cette approche pourrait aider à diminuer l'emploi abusif d'antibiotiques et de limiter ainsi l'émergence de nouvelles résistances. En parallèle, l'huile essentielle de *Aloysia citrodora* est aussi connue pour ses vertus antioxydantes, qui pourraient contribuer à la prévention des lésions cellulaires induites par le stress oxydatif, un élément crucial dans nombreuses pathologies.

L'hypothèse principale de cette étude est que l'huile essentielle pourrait améliorer l'efficacité de l'antibiotique et fournir des propriétés protectrices contre le stress oxydatif.

Ce mémoire est organisé en deux parties principales. La première partie est consacrée à une revue bibliographique détaillée, qui présente les aspects théoriques relatifs aux huiles essentielles, à la résistance bactérienne, ainsi qu'aux mécanismes d'action des antibiotiques. La deuxième partie expose la méthodologie expérimentale, détaillant le matériel, les méthodes de préparation des échantillons, ainsi que les protocoles d'évaluation de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne, aussi les résultats obtenus lors des tests de synergie et d'activité antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire suivis d'une analyse critique et d'une discussion sur les implications de ces résultats.

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre 1

La phytothérapie et la verveine odorante

Aloysia citrodora (Lippia citriodora)

I. La phytothérapie

La phytothérapie et son rôle dans la lutte contre les infections :

La phytothérapie, du grec *phyton* (plante) et *therapeia* (soin), désigne l'utilisation thérapeutique des plantes ou de leurs composés actifs naturels (polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, huiles essentielles, etc.) (Jean-Yves Chabrier, 2010).

Reconnue officiellement par l'Académie de médecine depuis 1987, elle représente une alternative ou un complément à la médecine conventionnelle, notamment face aux effets secondaires des traitements chimiques et à l'émergence des résistances antimicrobiennes. (Berlancourt, 2008-2017).

On distingue deux types de phytothérapie :

- **Traditionnelle** : fondée sur l'usage empirique de plantes pour soulager des symptômes (troubles digestifs, cutanés, etc.). (Prescrire, 2007).
- **Clinique** : s'appuie sur un diagnostic global et agit en complément de traitements allopathiques pour rééquilibrer le système neurovégétatif sur le long terme. (Moreau, 2003)

Historiquement, les plantes ont toujours été utilisées contre les infections, bien avant les antibiotiques. Aujourd'hui, leur richesse en **composés bioactifs** (issus de leur défense naturelle contre les pathogènes) suscite un regain d'intérêt. Ces molécules présentent diverses **propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antivirales ou antimicrobiennes**. (Duraffourd, 2017 ; Kaur & Das, 2011)

Parmi les principales familles :

Polyphénols

- **Propriétés** : antioxydantes, anti-inflammatoires, cardioprotectrices, anticancéreuses, antivirales.
- **Mécanismes d'action** : neutralisation des radicaux libres, modulation de l'expression génique, inhibition de l'adhésion microbienne, perturbation des membranes bactériennes, régulation des voies de signalisation cellulaire impliquées dans l'inflammation (ex. : NF-κB).

Alcaloïdes

- **Propriétés** : analgésiques, antipaludiques, neuroactives, antitumorales, antihypertenseurs.
- **Mécanismes d'action** : inhibition enzymatique, blocage des récepteurs neuronaux, interférence avec la synthèse des acides nucléiques, induction de l'apoptose dans les cellules tumorales.

Terpènes (et terpenoïdes)

- **Propriétés** : anti-inflammatoires, antioxydantes, sédatives, immunostimulantes, anticancéreuses.
- **Mécanismes d'action** : déstabilisation des membranes cellulaires, modulation du système immunitaire, inhibition de l'angiogenèse (dans le cancer), action sur les canaux ioniques et récepteurs neuronaux.

II. La verveine odorante

La verveine citronnée (*Aloysia citrodora*) est un exemple particulièrement intéressant parmi les nombreuses plantes employées en phytothérapie pour leurs composés bioactifs. Cette plante aromatique, initialement d'Amérique du Sud et actuellement cultivée dans diverses zones méditerranéennes, est connue pour ses vertus digestives, apaisantes et antimicrobiennes. Ses propriétés curatives s'expliquent par sa concentration en huiles essentielles (notamment le citral, le limonène et le géraniol), ainsi qu'en flavonoïdes et polyphénols, qui lui confèrent des actions antioxydantes, anti-inflammatoires et apaisantes.

1. Définition

La verveine odorante, Appartient à la famille des verbénacées. Elle est originaire du Chili et a été introduite en Europe vers 1784 (Belkamel et al., 2018). *Lippia citriodora* (Verbenaceae) est cultivée dans la région méditerranéenne depuis la fin du XVIIIe siècle. Elle est utilisée dans la médecine populaire grecque pour boire du thé contre les vertiges, les nausées, les flatulences, maux de tête et dyspepsie (Skaltsa et Shamma, 1988).

2. Historique

La verveine citronnée (*Aloysia citrodora*), plante originaire d'Amérique du Sud (principalement du Pérou, du Chili et d'Argentine), a été introduite en Europe à la fin du XVIIIe siècle. D'après Rollet, elle serait arrivée en Europe du Sud et en Angleterre vers 1784 grâce à des explorateurs espagnols, tandis que Gilly situe son introduction au début du XIXe siècle (Rollet & Gilly, 2003).

Appréciée pour son parfum frais et citronné, la plante a connu un grand succès à l'époque victorienne en Angleterre, notamment dans la fabrication de pots-pourris. Sa capacité à conserver longtemps son arôme a favorisé son usage en parfumerie et en herboristerie.

Au fil du temps, elle s'est répandue dans diverses régions du monde : Inde, Antilles (notamment la Martinique), La Réunion, ainsi qu'en Méditerranée, notamment en Italie où elle s'est parfois naturalisée, en Tunisie et en Algérie. En France, sa culture s'est développée autour de Grasse, Cannes, Nice et Antibes, en raison de son intérêt pour la parfumerie, la liquoristerie et les usages médicaux.

Elle a également montré une bonne tolérance au froid, ce qui a permis sa culture jusqu'à des régions plus au nord comme Lyon ou Dijon (Bonjean, 2001).

3. Classification

Tableau 1 : classification botanique de la plante *Aloysia citrodora*. (Ghédira K, 2017)

Espèce	<i>Aloysia citrodora</i> palau., 1784
Genre	Aloysia
Famille	Verbenaceae
Superordre	Asteranae
Ordre	Lamiales
Règne	<i>Plantae</i>
Super-division	Embryophyta
Division	Tracheophyta
Subdivision	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida

4. Origine

La verveine odorante, est originaire des Andes pousse au Chili et au Pérou, et elle est cultivée en Amérique du Sud (Bolivie, Brésil, Uruguay, Argentine) et aux Caraïbes (Ghédira et Goetz, 2017), cultivée comme espèce ornementale en Europe depuis ces dernières années (2000), parfois subspontanée dans la région méditerranéenne.

5. Distinction entre la verveine odorante et la verveine officinale

Tableau 2 : les principales différences entre la verveine odorante et la verveine officinale

Critères	Verveine citronnée	Verveine officinale
Origine	Amérique du sud (Argentine, Chili, Pérou)	Asie et Europe.
Famille	Verbenaceae	Verbenaceae
Aspect générale	Un arbuste très aromatique pouvant atteindre une hauteur de 2 mètres.	Plante herbacée de taille inférieure, mesurant environ 30 à 80 cm.
Aspect des feuilles	Mesurant de 4 à 10 cm, étroites et allongées comme une lance, d'un vert clair et très douce au toucher, elles libèrent un puissant parfum citronné lorsqu'on les froisse.	Plus courte, ovales lancéolées, avec des bords dentelés d'un vert moins vif et une texture rugueuse, elles dégagent un parfum herbacé.

Principe actifs	Limonène, nérol, citral, géraniol.	Flavonoïdes, iridoïdes, verbénaline.
Odeur	Citronnée	Herbacée, amère
Goût	Doux, Citronnée	Amer
Usage principale	Infusions calmantes, antioxydantes	Anti-inflammatoire, stimulant digestif, tonique nerveux

On confond souvent la verveine citronnée (*Aloysia citrodora* ou *Lippia citriodora*) avec la verveine officinale (*Verbena officinalis*), ces deux plantes étant distinctes mais partageant le même nom commun « verveine ». (BELLAKHDER,1997)

Figure 1 : la verveine odorante et la verveine officinale

Aloysia citrodora



Verbena officinalis



6.Description botanique d'*Aloysia citrodora*

La verveine odorante est un arbrisseau ramifié qui présente de longues tiges angulaires (Figure3) et cannelées, portant des feuilles rugueuses (Figure 4), disposées en verticilles de trois (et parfois quatre). Les fleurs (Figure 5), organisées en forme d'épis, possèdent quatre pétales fusionnés à leur base pour former un tube, puis déployés en quatre lobes de deux couleurs : blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne (Bruneton, 2009). L'espèce peut être cultivée sur le pourtour méditerranéen (Ghédira et Goetz, 2017).

C'est un arbuste vivace de 3.0 à 5.0 m de haut dans son air d'origine ou sous climat chaud, mais qui ne dépasse généralement pas 0.8 à 2.0 m en zone tempérée froide. Elle possède des branches verticales, striées, angulaires et ramifiées. Ses feuilles vert clair allongées (7-10 cm) sont similaires à celles pêcher, glabres et pointues, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, à pétioles très courts, rudes au toucher, entières à légèrement dentées, portant une nervure très proéminente et des glandes huileuses (trichomes sécréteurs) sur leur face inférieure, dégageant une odeur citronnée, surtout sur le frais ou au froissement, et à saveur piquante, un peu amère. Inflorescences rameuses, longues en épis lâches (Bonjean, 2001). La feuille est simple, à limbe étroit, lancéolé, aigu, à bords ondulés recourbés vers la face supérieure. La nervure médiane est très saillante à la face inférieure et les nervures secondaires sont dirigées vers les bords du limbe. Après broyage, la feuille présente une odeur caractéristique, rappelant celle du citron (Ghédira et Goetz, 2017).

Ces petites fleurs, blanches ou purpurines, qui fleurissent principalement en août dans nos régions, possèdent des corolles en forme d'étoile à cinq lobes courts, obtus et uniformes. Elles sont généralement blanches à l'extérieur et mauves ou violacées à l'intérieur. Les calices ont quatre sépales ouverts et arrondis (Bonjean, 2001).

Tableau 3 : les différents organes de la verveine odorante.

L'organe	L'image
Feuilles	
Tige	
Fleure	

7. Répartition géographique de la verveine citronnée en Algérie

7.1. Les zones côtières et sub-littorales

Ces zones bénéficient d'un climat méditerranéen doux et humide durant l'hiver, ainsi que chaud durant l'été, ce qui en fait les régions idéales pour la culture de la verveine citronnée.

- Wilayas concernées :

Alger, Blida, Tipaza, Boumerdès.

Tizi Ouzou, Béjaïa, Jijel, Skikda, Annaba, El Taraf.

Oran, Mostaganem, Tlemcen, Aïn Témouchent. (Boukhatem, 2014 ; DSA, 2021).

7.2. Hauts Plateaux (zones tempérées semi-arides)

La verveine citronnée peut être cultivée avec succès dans certaines zones des Hauts Plateaux, bénéficiant de précipitations modérées et d'un système d'irrigation adapté à la culture des plantes aromatiques.

Wilayas concernées (avec culture maîtrisée) : Batna, M'sila, Tiaret, Saïda, Tébessa, Sétif. (INRAA, 2019 ; Benhmed, 2020)

7.3. Zones du Sud (sous serre ou jardin botanique)

Dans les régions sèches du sud, la plante ne pousse pas naturellement, mais elle peut être conservée dans des jardins expérimentaux ou pour des objectifs de recherche.

Exemples :

Jardins d'essai à Biskra ou Ghardaïa, où des projets de culture d'aromatiques en serre existent. (Bradai, 2021 ; ITCI, 2022)

- **Facteurs influençant sa répartition**

Climat de type méditerranéen ou tempéré.

Sol bien dragué, riche en matière organique.

Exposition au soleil.

Protection contre le gel excessif (comme c'est le cas en montagne). (FAO, 2018 ; Belhamra, 2022)

Zones Principales de Distribution (Wilaya de Tlemcen)

A. Zone Ouest (Frontière Marocaine)

Maghnia

Périmètres agricoles le long de l'oued Tafna. (Benzi, 2022).

B. Zone Centre**Remchi**

Vergers expérimentaux de la station INRAA. (INRAA Tlemcen, 2020)

Nedroma

Sites documentés : Jardins familiaux et coopératives agricoles (ex. : Douar Sidi Boumediene) (DSA de Tlemcen, 2021)

8. Dénominations vernaculaires

Le nom commun "Verveine odorante" provient du latin "verbena", qui signifiait "branche feuille » (Citrodora Palau, 2001).

Tableau 4 : Dénominations vernaculaires internationales (Ghédira et Goetz, 2017).

Arabe	لويزة ليمونية، تيزانة
Français	Verveine vraie, verveine citronnée ou verveine du Pérou
Anglais	Lemon verbena, Lemon beebrush

9. Synonyms

- Aloysia salumeria moldenke.
- Aloysia triphylla (L'Hér) Britton.
- Aloysia triphylla Royle.
- Lippia citriodora (Paláu) Kunth.
- Lippia triphylla (L'Hér) Kuntze.
- Verbena citriodora (Pálau) Cav.
- Verbena triphylla L'Hér.
- Zappania citriodora (Pálau) Lam (Ghédira et Goetz, 2017).

10.Composition chimique de la verveine odorante

La recherche morpho-anatomique et histochimique menée par Argyropoulou et al. (2010) a démontré que les feuilles d'*A. citrodora* contiennent une variété de soies (non glandulaires) ainsi qu'au minimum cinq sortes de trichomes glandulaires, ces derniers présentant des différences anatomiques et dans leur composition de leurs métabolites secondaires. L'examen par microscopie électronique à balayage a démontré la présence de types similaires de trichomes sur les calices. L'*Aloysia citrodora* est une espèce phytothérapeutique qui renferme divers flavonoïdes et acides phénoliques (Cruz et al., 2010) dotés de capacités antioxydantes (Pastorelli et al., 2012). Les parties de la plante couramment utilisées sont les feuilles, qu'elles soient fraîches ou séchées (Alain et al., 2001).

11.L'huile essentielle : composition chimique

Le principe actif c'est le citral et l'aldéhyde terpénique (Loïc Girre, 2006), elle contient aussi des dérivés hydroxycinnamique, des monoterpènes et des hydrocarbures sesquiterpéniques γ -Muurolene, D, L-Limonène, acétate trans-chrysanthenyl, acétate verbenyl, 1,8-Cineol, spathulenol, caryophylline (Hasan M, 2022), Linalol, curcumène acétate de géranyle, 4-phényl undécan-4-ol, cédrool et carvéol (Slimani N, 2013). Les principaux composants de l'huile étaient le 1,8-cinéole (12,4%), le géraniol (9,9%), le 6- méthyl-5-heptène-2-one (7,4%) et le neral (6,9%) (Bellakhdar et al., 1994).

Principaux constituants des huiles essentielles d'*Aloysia citrodora*

Selon (Slimani N, 2013), les conclusions tirées de l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'*A. citrodora* sont illustrées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Principaux constituants des huiles essentielles d'*Aloysia citrodora* (Slimani N et Dahmane M, 2013).

Composants	Aire (%)	Temps de rétention (minute)
Limonène	10,6	7,45
Citral	11,3	6,26
Curcumène	6,5	10,14
4- Phényl undécan-4-ol	7,7	9,23
Carvéol	3,7	14,0
Cédrol	4,5	12,67
Caryophyllène	2,8	16,23
Linalol	3,5	14,96
Acétate de géranyle	1,8	19,97

12. Les propriétés thérapeutiques de la verveine odorante

Les activités biologiques de *A. citrodora* L selon (Bravo et Mulet, 2020) sont :

- **Activité antioxydante**

La verveine citronnée contient une forte concentration de composés phénoliques (flavonoïdes, acides phénoliques) et d'huile essentielle (citral, géraniol, néral), ce qui lui confère une importante capacité antioxydante. Elle contribue à neutraliser des radicaux libres et à la diminution du stress oxydatif.

- **Activité anti-inflammatoire**

Des études montrent que les extraits de verveine citronnée possèdent des effets anti-inflammatoires, notamment grâce à ses composés comme le verbascoside, qui inhibe certaines voies inflammatoires (comme la COX-2 et les cytokines pro-inflammatoires).

- **Activité anxiolytique et sédatif**

Habituellement employée en tisanes pour ses propriétés apaisantes, la verveine citronnée serait bénéfique pour le système nerveux, contribuant à diminuer l'anxiété et à faciliter l'endormissement. On utilise parfois son huile essentielle en aromathérapie en raison de ses propriétés.

- **Activité neuroprotectrice**

La verveine citronnée, riche en antioxydants, pourrait jouer un rôle préventif face aux maladies neurodégénératives telles que l'Alzheimer en réduisant l'oxydation neuronale.

- **Activité antimicrobienne**

L'huile essentielle de verveine citronnée montre une action antibactérienne et antifongique contre plusieurs souches comme *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, due principalement au citral (géraniol + néral).

- **Activité digestive et carminatif**

En phytothérapie, la verveine citronnée employée pour améliorer la digestion, réduire les ballonnements et les spasmes intestinaux grâce à ses propriétés antispasmodiques.

- **Activité antidiabétique potentielle**

Certaines études suggèrent que les extraits de verveine citronnée pourraient aider à réguler la glycémie en inhibant certaines enzymes comme l' α -amylase, ce qui pourrait être bénéfique pour le contrôle du diabète de type 2.

- **Propriété insectifuge**

La verveine citronnée, grâce à sa concentration en citral, est parfois utilisée comme répulsif naturel contre les moustiques.

- **Utilisation courante**

Infusion (digestion, relaxation)

Huile essentielle (aromathérapie, antibactérien), Complément alimentaire (antioxydant, anti-inflammatoire)

Chapitre 2

Les activités biologiques

Les bactéries et les antibiotiques

I. Les activités biologiques

1. L'activité antioxydante

1.1. L'oxydation

L'oxydation est un terme chimique qui signifie la perte d'un ou de plusieurs électrons par une espèce chimique, ce qui traduit par une augmentation du nombre d'oxydation de l'espèce chimique concernée. Le nombre d'oxydation est une charge hypothétique qu'un atome aurait si toutes ses liaisons avec des atomes d'éléments différents étaient ionique.

1.2. Les radicaux libres

Ce sont des espèces chimiques instables et très réactives, caractérisés par un ou des électrons non appariés sur leurs couches périphériques (Halliwell, 1999). Ces radicaux sont divisés en deux classes : oxygénés (ROS) et azoté (RNS), qui vont capter les électrons des protéines, des glucides, des lipides ou des acides nucléiques, en provoquant ainsi un déséquilibre de la membrane plasmique, alors un stress cellulaire ou le « stress oxydatif » (Avello, 2010). À long terme, cette agression à l'échelle de l'organisme contribue au vieillissement, à l'affaiblissement immunitaire et à diverses maladies graves. (Baudoin, 2010)

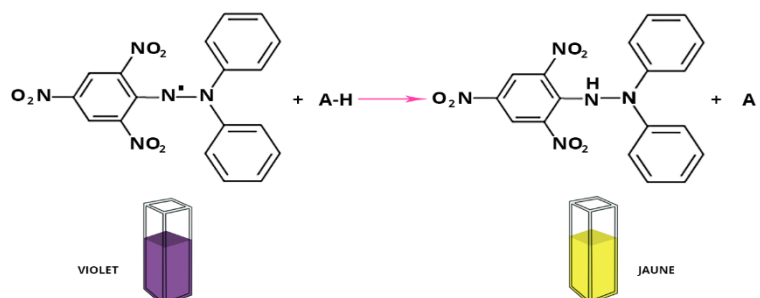
1.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont tous substance agit en donnant un électron aux radicaux libres pour les stabiliser et les neutraliser, ou elle peut également agir en inhibant leur formation. Ces antioxydants protègent les macromolécules de l'oxydation en cédant de l'hydrogène et neutralisent les radicaux libres par divers mécanismes, incluant l'addition par des liaisons covalentes, la réduction de peroxyde et de métaux, la complexation des métaux de transition et des ions, et le piégeage de l'oxygène. (Pisoschi et Negulescu, 2011)

1.4. L'évaluation de l'activité antioxydante

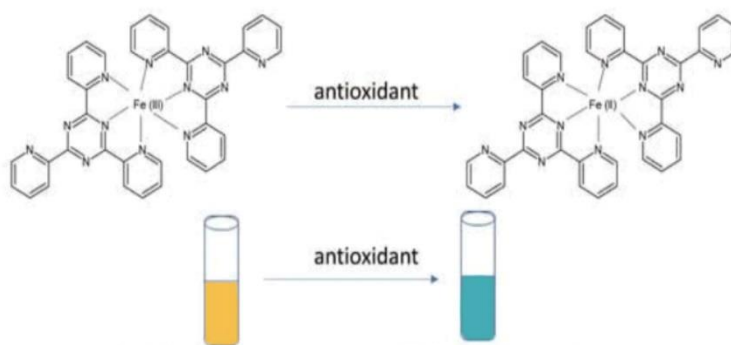
1.4.1. La méthode de DPPH

C'est une technique spectrométrique réaliser *in vitro*, et utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante de diverses substances. Elle repose sur le principe de la réduction et la neutralisation du DPPH (un radicale de couleur violette), par un antioxydant qui va réagir avec le radical par une réaction entraîne une diminution de l'absorbance de la solution et se traduit par une décoloration de la couleur violette vers la couleur jaune. La mesure d'absorbance s'effectue à une longueur d'onde de 517 nm, qui permet de quantifier l'activité antioxydante de la molécule testée. Plus la décoloration est importante, plus l'activité antioxydante est puissante.

Figure 2 : réaction de la réduction du DPPH par un antioxydant.

1.4.2. Méthode de FRAP

Cette technique d'évaluation du pouvoir réducteur d'une substance, repose sur le principe de la capacité d'un antioxydant à réduire les ions ferrique « Fe^{3+} » en ions ferreux « Fe^{2+} ». Ce processus s'accompagne d'un changement de la couleur du jaune vers un bleu-vert. L'intensité de cette couleur est proportionnelle avec le pouvoir réducteur de la molécule étudiée. La mesure s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre et à une longueur d'onde de 700 nm, plus l'absorbance est élevée, plus la capacité antioxydante est importante.

Figure 3 : réaction de réduction par la méthode de FRAP.

2. L'activité anti-inflammatoire

2.1. L'inflammation

Une inflammation est une réponse biologique complexe du système immunitaire ou des tissus vasculaires, face à des agressions externes, tels que des agents pathogènes, des brûlures, des tissus endommagés ou des irritants, ou à des agressions internes comme les cellules cancéreuses. L'inflammation implique la libération des enzymes lysosomales qui peuvent endommager les tissus. Bien

qu'elle soit une réponse protectrice essentielle, une inflammation excessive ou chronique peut entraîner de douleurs et des dommages tissulaire. (Okoli et Akah, 2004)

2.2. L'activité antiinflammatoire

L'activité anti-inflammatoire c'est la capacité d'une substance ou d'un traitement à réduire l'inflammation. De nombreux substances naturelles telles que les extraits de plantes et les huiles essentielles, possèdent également une propriété anti-inflammatoire, l'évaluation de cette capacité s'effectue au laboratoire selon deux méthodes : *in vivo* et *in vitro*.

2.3. Evaluation de l'activité antiinflammatoire

2.3.1. Evaluation *in vitro*

- **Inhibition de la dénaturation des protéines** : ce test évalue la capacité d'une substance naturelle à inhiber la dénaturation thermique des protéines (comme l'albumine), un phénomène impliqué dans le processus de l'inflammation. (Williams I, et al. 2008)
- **Stabilisation de la membrane des globules rouges** : ce test mesure la capacité d'un extrait ou d'un composé à protéger les membranes des GR contre la lyse induite par la chaleur ou des agents inflammatoires. (Bouderbala R, et Aimar A-A, 2023)
- **Inhibition de l'activité enzymatique pro-inflammatoire** : ce test mesure la capacité d'une substance à inhiber les enzymes qui jouent un rôle clé dans l'inflammation, notamment la cyclooxygénase « COX-1 et COX-2 » qui produit les prostaglandines, et la lipoxygénase « LOX » qui produit les leucotriènes. (Gheddab N, 2016)
- **Modulation de la production de médiateurs inflammatoires dans des cultures cellulaires** : on peut utiliser des cellules immunitaires comme les macrophages ou les des cellules qui produisent des médiateurs inflammatoires comme les cytokines, les interleukines, les TNF- α ,.... Ensuite, l'évaluation de la capacité de la substance étudiée à inhiber cette production. (Borgi et al, 2008)

2.3.2. Evaluation *in vivo*

Ces études nécessitent l'utilisation d'animaux de laboratoire comme les rats et les souris, dans lesquels une inflammation est induite expérimentalement.

- **Œdème de la patte induit par la carraghénine** : c'est un modèle classique d'inflammation aigue. L'injection de la carraghénine dans la patte de l'animal provoque un gonflement, qui peut être mesurer à l'aide d'un pléthysmomètre.

L'activité anti-inflammatoire est évaluée en mesurant la réduction de cet œdème après l'administration de la substance testée.

Après avoir induit l'inflammation et administrer la substance testée, on peut prélever des échantillons biologiques comme le sang ou un tissu pour mesurer les niveaux de différents marqueurs de l'inflammation (cytokines, enzymes,...). (Sene M, et al. 2024)

3. L'activité antimicrobienne

Une infection bactérienne est toute agression de l'organisme vivant par un ou des germes pathogènes, qui peuvent être des bactéries, des virus, des parasites ou des champignons. L'activité antimicrobienne fait référence à la capacité d'une substance à perturber les processus vitaux des microorganismes.

3.1. L'antibactérien

Un antibactérien c'est toutes substance (naturelle, chimique, synthétique, ou semi-synthétique) capable d'inhiber la croissance bactérienne ou tuer les microorganismes, et agir par diverses manière, tels que la perturbation de la membrane cellulaire ou l'inhibition de la synthèse des protéines et d'ADN ou\et l'ARN. La sensibilité d'une bactérie dépend principalement selon la nature de l'antibactérien et la nature de la bactérie elle-même.

3.2. L'antibiogramme (ATB)

C'est l'examen dans lequel on peut identifier la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis la substance antibactérienne, cette sensibilité est définie par deux paramètres :

CMI : la plus faible concentration de l'antibactérien qui peut inhiber la croissance bactérienne dans une période de 18-24h.

CMB : la plus faible concentration de l'antibactérien qui peut tuer 99% des bactéries dans une période de 18-24h.

3.3. L'évaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro* s'effectue par deux méthodes :

3.3.1. Diffusion sur milieu solide

C'est la méthode de « Kirby-Bauer », elle consiste à imbiber des disques en papier filtre dans différentes concentrations de l'agent antibactérien, et les déposer dans un milieu de culture solide (exemple : la gélose) préalablementensemencé par la souche bactérienne. Après l'incubation, des zones claires s'apparaissent autour de chaque disque, où les composés antimicrobiens diffusent dans la gélose et tuent ou inhibent la croissance des bactéries et créent des « zones d'inhibition ». Plus le diamètre de la zone est grand, plus l'activité antimicrobienne est puissante. (Collins, et Lync, 1976)

3.3.2. Diffusion en milieu liquide

C'est la méthode de dilution, elle consiste à diluer un agent antibactérien dans une gamme de milieu de culture liquide, puis inoculer chaque dilution par la souche bactérienne à tester. Cette méthode permet la détermination de la CMI et la CMB. (Burnichon N., et TexierA, 2003)

4.La synergie

4.1. Définition

Le mot « synergie », est d'origine grecque « synergos » qui signifie « travailler ensemble », et qui décrit une interaction où la combinaison d'au moins deux éléments produit un effet plus important que la somme de leurs effets individuels. En toxicologie, la synergie se manifeste lorsqu'une exposition simultanée à plusieurs substances chimiques entraîne des conséquences qui sont plus grandes que la somme des effets individuels de chaque produit. Face à de telles synergies, une réévaluation des risques potentiels est indispensable pour tenir compte de cette potentialisation. [3]

4.2. Historique

L'histoire de la synergie est marquée par une progression de l'observation de phénomènes interactifs à la formalisation de principes explicatifs dans diverses disciplines. Au milieu du 19^{ème} siècle, des observations ont été faites en chimie et en pharmacologie, l'expression imagée $1+1=3$, où le mélange de certaines substances exerçait des effets pharmacologiques et des réactions plus importantes que la somme des effets de chaque composé pris isolément [4]. Au début du 20^{ème} siècle, le sociologue Lester Frank Ward a apporté à une conceptualisation plus générale de la synergie, la considérant comme un principe fondamental de la nature. Il percevait la synergie comme une force constructive, manifeste non seulement au sein des systèmes biologiques mais également dans les interactions sociales et le processus d'évolution. Sa perspective a contribué à élargir la portée du concept au-delà des sciences biologiques (John C, 1956). Actuellement, le domaine de la biologie utilise les principes de la synergie pour construire et concevoir de nouveaux systèmes biologiques avec diverses fonctions émergentes. L'assemblage de différentes substances biologiques peut former des systèmes qui fonctionnent d'une manière synergique pour réaliser des tâches plus complexes.

4.3. La synergie des huiles essentielles et les antibiotiques

Cette étude est un domaine de recherche très prometteur pour lutter contre la résistance bactérienne, un problème de santé publique majeur. Elle repose sur le principe d'utiliser des concentrations plus faibles d'antibiotiques en les combinant avec des HEs, ce qui pourrait non seulement améliorer leur efficacité mais aussi réduire le risque d'apparition de souches bactériennes résistantes et minimiser les

effets secondaires. L'objectif de cette étude est de déterminer si la combinaison d'une HE et un antibiotique a un effet supérieur à la somme de leur effet individuels sur la croissance bactérienne.

Une étude a montré la capacité de l'HE de la cannelle à provoquer des problèmes graves et irréversibles pour la membrane bactérienne de *E. coli*. L'accumulation de l'HE produit une dénaturation et une acidification des protéines membranaires, ce qui facilite l'accès des antibiotiques pour interagir et induire la mort de la bactérie. (Vasconcelos, Croda et al., 2018)

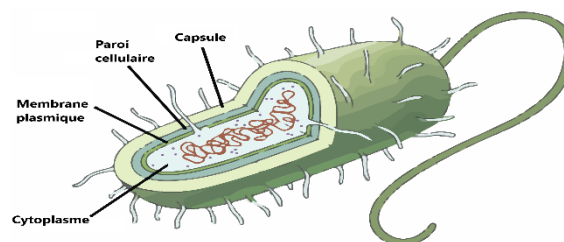
II. Les bactéries et les antibiotiques

1. Généralités

Les procaryotes, notamment les bactéries et les archées, ainsi que leurs virus, constituent la forme de vie dominante sur terre. Les procaryotes règnent sans partage par leur masse et leur nombre, mais aussi par leur capacité de la colonisation, par une adaptation à des environnements extrêmes à des conditions physico-chimiques défavorables pour tout micro-organisme plus complexe. La diversité des procaryotes dépend de leurs physiologie, style de vie, et la capacité nutritionnelle, ils jouent un rôle central dans les cycles biogéochimique, notamment dans le recyclage de la matière organique, ce qui les place au cœur du fonctionnement des écosystèmes (Luciano P, 2015).

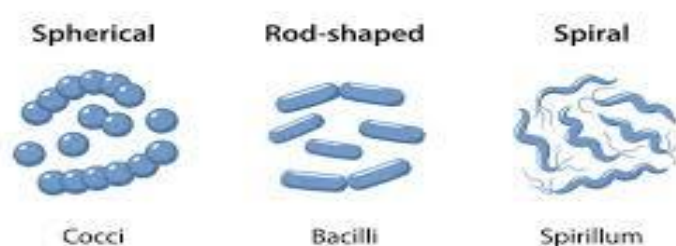
La nature procaryote des organismes est généralement schématisée en 4 points principaux : 1. La paroi, Structure complexe multi-stratifiée, l'enveloppe ; 2. L'absence de la membrane nucléaire ; 3. L'absence de la membrane interne, à l'exception de la Planctomycète ; 4. Les constituants du cytoplasme.

Figure 4 : organisation d'une cellule procaryote.



Les procaryotes présentent une large variété de morphologie, la forme et la taille sont des caractéristiques importantes des micro-organismes. Les bactéries présentent différentes formes, notamment en bâtonnet, sphères, spirale, sphéroïdes, rectangles, cônes, filaments et étoiles. Ils peuvent être des bactéries seules, ou sous forme d'une masse ou un réseau d'hyphes, portant différents noms tels que les coques, diplocoques, bacille, vibrions, spirille, spirochète, trichome et des hyphes (Paul S, 2005). Les détails leurs morphologie sont visibles qu'avec le microscope électronique.

Figure 5 : quelques formes et modes d'association des bactéries.



2. Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes omniprésents et unicellulaire, bien qu'elles soient parfois visibles lors d'infections ou de décomposition, elles sont généralement invisibles à l'œil nu. Leur découverte a été rendue possible grâce à l'invention du microscope au XVII^e siècle. Elles sont divisées en deux classes : les bactéries dites « Bacteria » et les archées ou les bactéries primitives dites « Archaea ». (Paul S, 2005).

La différence entre les bactéries et les archées

• Bactéries

- La paroi bactérienne contient le peptidoglycane.
- Membrane cellulaire possède des lipides à liaison ester avec des chaînes d'acides gras non ramifiées.
- Système génétique plus simple.
- Omniprésentes et se trouvent dans une grande variété d'environnements.

• Archées

- La paroi ne contient pas de peptidoglycane.
- Membrane cellulaire possède des lipides à liaison éther avec des chaînes d'hydrocarbure ramifiées.
- Système génétique complexe.
- Associées à des environnements extrêmes (sources chaudes, lacs salés, environnements acides ou alcalins...)

Comme il a été mentionné précédemment, les bactéries peuvent se différencier selon leur forme, leur structure et leur métabolisme, elles sont classées en catégories hiérarchisées, famille, genre et espèce. Les espèces qui sont très semblables sont groupées dans le même genre, et les genres qui portent une similarité sont placés dans la même famille. Une espèce capable d'être subdivisée en 2 ou plusieurs souches (Paul S, 2005).

3. Les souches bactériennes

3.1. *Escherichia coli*

3.1.1. Classification

Tableau 6 : classification bactérienne de l'espèce *E. coli*. (Garrity et al., 2007)

Domaine	Bactérie
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

3.1.2. Description

E. coli est une bactérie très répandue, qui vit naturellement dans la microflore intestinale des humains et des animaux en bonne santé, sous forme bâtonnet isolée ou par paires. Généralement mobile « flagellée » où il y a plus de quarante gènes participant à la mobilité de l'*E. coli* (Jerome J.P, 2004). Elle est de type Gram négatif, et d'un métabolisme respiratoire, dans des conditions aérobiques et une température optimale de 37 °C. Elle pratique la fermentation ou la respiration nitrique dans les conditions anaérobiques. Habituellement la fermentation du glucose s'accompagne avec la production du gaz, via la fermentation des acides mixtes. L'*E. coli* est capable de synthétiser plus de mille protéines différentes. (Paul S, 2005)

Les infections à l'*E. coli* surviennent par ingestion de la bactérie, par des aliments contaminés, l'eau, contact avec des animaux ou des personnes infectés. Elle provoque une diarrhée, une pneumonie, une septicémie et une infection des voies urinaires. (Camille D, 2014)

3.1.3. Résistance aux antibiotiques

Initialement sensible à de nombreux antibiotiques (céfazoline, cefixitine, ceftriaxone...), l'*E. coli* développe fréquemment une résistance de large spectre de ces médicaments, particulièrement en milieu hospitalier. Bien que résistante varie : elle est élevée pour la gentamycine, la lincomycine et l'érythromycine, mais plus faible pour le chloramphénicol (20%) et les sulfamides (45%).

3.2. *Pseudomonas aeruginosa*

3.2.1. Classification

Tableau 7 : classification bactérienne de l'espèce *P. aeruginosa*. (Garrity et al., 2007)

Domaine	Bactérie
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonasales
Famille	Pseudomonaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

3.2.2. Description

La *P. aeruginosa* ou bacille pyocyanique, est une bactérie à Gram négatif, ubiquitaire et saprophyte, qui se trouve dans les eaux douces, le sol, les environnements humides et comme un agent pathogène chez l'être humain, les animaux et les plantes. Elle est de forme bâtonnet et contient un ou plusieurs

flagelles qui sont habituellement polaires. Aérobie ou anaérobie facultatif, avec un métabolisme chimioorganohétérotrophe où elle est capable d'utiliser une variété de composés organiques, avec une production des pigments comme la pyocyanine (vert-bleu) et la pyoverdine (vert-jaune). (Paul S, 2005)

Les infections associées à la *P. aeruginosa* touchent généralement les voies urinaires, les voies nasales, les plaies et les brûlures, le sang (septicémie), les yeux et les oriels (otites), elle provoque aussi une endocardite. (Camille D, 2014)

3.2.3. Résistance aux antibiotiques

La *P. aeruginosa* est une bactérie très résistante pour les antibiotiques : Ticarcilline, Pipéracilline, Péfloxacin, Pristin, Tobramycine et Triméthoprine+sulfaméthoxazole.

4. Les antibiotiques

4.1. Historique

A la fin de 19^{ème} siècle, Louis Pasteur et Joubert observent une action antagoniste entre des microorganismes, et en 1897 Ernest Duchesne a mis en évidence la concurrence vitale entre les moisissures du genre « *Penicillium* » et les bactéries, entrevoyant des applications thérapeutiques. En 1928, Alexander Fleming un bactériologiste à Londres, découvre accidentellement des propriétés antibactériennes d'une moisissure *Penicillium rubens*, il observe qu'une contamination par cette moisissure inhibe la croissance de staphylocoques dans une de ses cultures. Fleming publie ses observations nommant la substance « Pénicilline », et en 1940 les essais cliniques sur des humains sont couronnés de succès. [2]

La découverte de la Pénicilline pendant la Seconde Guerre mondiale, a marqué un progrès médical majeur, la demande de cet antibiotique explose en raison de son efficacité pour traiter les blessures infectées des soldats. Cette histoire, loin d'être simple a été pleine de rebondissement, et marquée par des chercheurs britanniques qui ont créé le concept d'antibiothérapie. (Moulin M, 2002)

4.2. Définition

Les antibiotiques sont utilisés majoritairement pour la prévention ou le traitement des infections bactériennes, ils sont des substances produites par le métabolisme de bactéries ou de moisissures, ou obtenues par la synthèse chimique. Ils agissent en interférant avec des processus essentiels à la vie des bactéries, en les inhibant ou les détruisant, même à faible concentration. (Gazengel J-M, 1999). Les antibiotiques sont classés en deux catégories :

- **Bactéricides** : ils tuent et détruisent directement les bactéries, par une action irréversible, et souvent préférés chez les patients immunodéprimés et les infections graves où l'élimination rapide des germes est cruciale.

- **Bactériostatiques** : ils inhibent la multiplication des bactéries sans les tuer nécessairement, par une action réversible où la croissance bactérienne peut se reprendre si l'antibiotique est retiré. Ils peuvent être suffisants pour traiter diverses infections chez les patients ayant un système immunitaire compétent.

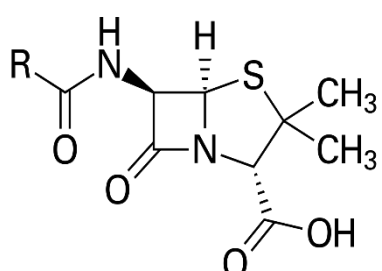
4.3. Spectres d'activité des antibiotiques

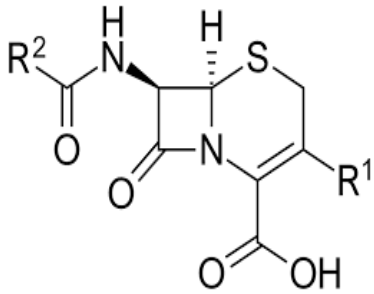
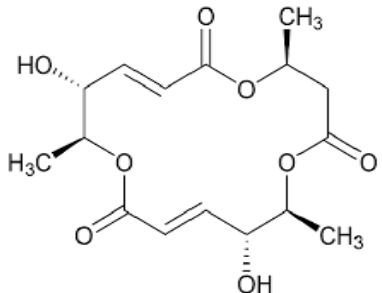
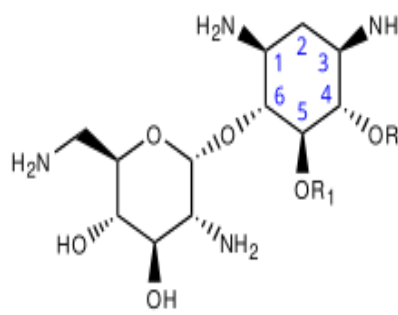
Les différents spectres d'activité des antibiotiques décrivent principalement la gamme de bactéries contre lesquelles l'antibiotique est efficace. On distingue trois grandes catégories :

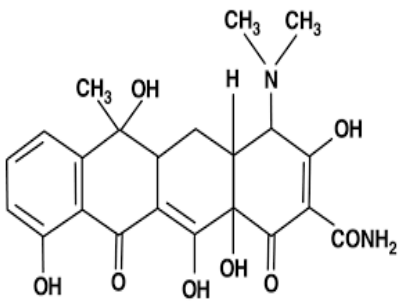
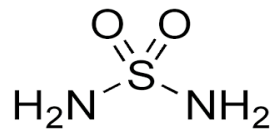
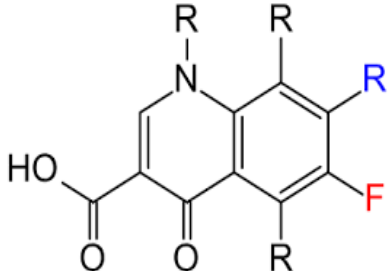
- **Antibiotiques à spectre large** : ils sont actifs contre un grand nombre d'espèces bactériennes, comprenant à la fois des bactéries de Gram négatif et Gram positif.
- **Antibiotiques à spectre moyen** : c'est une catégorie intermédiaire, ils ciblent généralement une gamme spécifique des bactéries, par exemple la plupart des bactéries Gram négatif et un nombre limité de bactérie Gram positif, ou inversement.
- **Antibiotique à spectre étroit** : ils ciblent un groupe spécifique et un nombre limité d'espèces bactériennes, par exemple principalement les bactéries Gram négatif ou principalement les bactéries Gram positif. (Gazengel J-M, 1999)

4.4. Classes d'antibiotiques

Tableau 8 : classes, structures et mécanismes d'action des antibiotiques. (Denis S, 2015)

Antibiotique	Structure chimique	Mécanisme d'action
Pénicilline ou β-lactamine « Bactéricides »	 Elles possèdent un cycle bêtalactamine, et une chaîne latérale qui confère pour chaque pénicilline sa spécificité bactériologique et physique.	Blocage de la constitution de la paroi bactérienne par l'inhibition des enzymes transpeptidases, où ils ne peuvent pas catalyser les liaisons peptidiques qui réticulent les chaînes de peptidoglycane, ce qui provoque un affaiblissement de la paroi cellulaire et une lyse bactérienne, conduisant ainsi à la mort de la bactérie.

Céphalosporines « Bactéricides »	 Possèdent un cycle lactame qui permet l'attachement à la pénicilline (superfamille des bêtalactamines).	Inhibition de la paroi bactérienne, et blocage de la synthèse des éléments responsables de la constitution de la paroi, tel que les transpeptidases et les liaisons des peptidoglycanes, conduisant ainsi à une lyse bactérienne et donc à la mort de la bactérie.
Macrolides « Bactériostatiques »	 Le « macro » est le cycle de base qui est de grande taille.	Agisse sur la sous-unité 50S du ribosome, en perturbant le processus de la translocation lors de la synthèse des protéines, ce qui empêche la production des protéines essentielles à la survie de la bactérie.
Aminosides « Bactéricides »	 Association un ou des molécules aminées à un sucre osidique.	Agissent en se liant à la sous unité 30S du ribosome bactérien d'une manière irréversible, ce qui provoque une lecture incorrecte du code génétique, ce qui inhibe la translocation et conduit à la disruption de la membrane et la synthèse de nouvelles protéine non fonctionnelles, et donc la mort bactérienne.

Tétracyclines « Bactériostatiques »	 Elles sont caractérisées par quatre cycles (tétra).	Elles agissent en se liant à la sous unité 30S du ribosome d'une manière réversible, ce qui empêche la liaison à l'ARN, et bloque ainsi l'élongation de la chaîne peptidique lors de la synthèse des protéines bactériennes.
Sulfamides « Bactéricides \ Bactériostatiques »	 Antibactériens synthétiques.	Fonctionnent comme des antimétabolites des acides nucléiques. Interfèrent avec le métabolisme de l'acide folique, qui est un composé essentiel à la production d'hémoglobine.
Quinolones « Bactéricides »	 Antibactériens synthétiques.	Agissent en bloquant la duplication de l'ADN, lors de la division cellulaire. Accumulation de cassures dans l'ADN, ce qui entraîne la mort de la bactérie.

5. La résistance aux antibiotiques : mécanismes d'actions

La résistance aux antibiotiques constitue l'un des plus graves problèmes de la santé publique mondiale, qui survient lors de l'évolution des bactéries et deviennent résistantes aux effets des antibiotiques, cela indique que les infections causées par ces bactéries (comme la pneumonie, la salmonellose, la tuberculose,...) sont très difficiles voire impossibles à traiter. Cette résistance conduit à une hospitalisation prolongée, une augmentation des coûts des soins médicaux, et une hausse des mortalités. Le développement et la propagation de la résistance aux antibiotiques s'accroissent par plusieurs facteurs, tel que le mauvais usage et l'utilisation excessive des antibiotiques. [26]

Exemple : mécanisme de résistance des bactéries aux β -lactamines : il existe deux types de résistance :

- **Résistance intrinsèque « constitutionnelle » :** elle peut être dû à des enzymes bactérienne généralement ciblées par l'antibiotique, qui suite à une mutation, présente une structure modifiée les rendant insensibles à l'antibiotique, soit car la paroi bactérienne externe (notamment chez les Gram négatif) constituée d'une couche de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable à l'antibiotique. Soit parce que la production constitutive (ou variable) des enzymes β -lactamases, dont le gène codant de ces enzymes peut être chromosomique ou plasmidique. Tous les β -lactamases ont la capacité d'ouvrir le cycle β -lactamate de l'antibiotique, le rendant inactif. (Moulin M, 2002)

On distingue trois principaux types de β -lactamases :

- **Les pénicillinases :** souvent d'origine plasmidique « transmissible », de résistance épidermique (comme chez *H. Influenzae*), qui hydrolysent les amino- et les carboxy-pénicillines.
- **Les céphalosporinases :** généralement d'origine chromosomique et souvent inductible avec la présence de β -lactamine.
- **Les β -lactamases à spectre élargi :** actives contre un large éventail de pénicillines et de céphalosporines, et fréquemment isolées chez des entérobactéries hospitalières multirésistantes. (Moulin M, 2002)
- **Résistance acquise « transmissible » :** dans ce cas, l'information génétique nécessaire à la production de la pénicillinase staphylococcique se trouve sur un plasmide. Ce plasmide peut être à d'autre bactérie par l'intermédiaire d'un phage (un virus bactérien), l'enzyme ainsi codée est inductible par son substrat, ce qui signifie que la présence de la pénicilline contribue au déclenchement de la résistance. L'efficacité des pénicillinases pour protéger la bactérie peut être modulée :
 - Chez les bactéries Gram positif, les pénicillinases sont sécrétées en grande quantité à l'extérieur de la cellule bactérienne.
 - Chez les bactéries Gram négatif, les pénicillinases sont sécrétées en faible quantité, mais elle se concentre entre la capsule et la membrane cytoplasmique, créant un point d'accès difficile pour l'antibiotique.

Au total, il existe quatre mécanismes de résistance aux antibiotiques pour les bactéries :

1. Génération d'une paroi bactérienne imperméable à l'antibiotique.
2. Inactivation enzymatique d'antibiotique.
3. Modification de l'affinité des cibles d'antibiotique.

4. Modification du métabolisme bactérien en prenant une voie non inhibée par l'antibiotique (exemple : sulfamide). (Moulin M, 2002)

6.Préventions

- La prise des antibiotiques se fait que par une prescription médicale nécessaire, en respectant la posologie, la fréquence et la durée du traitement indiquées par le médecin.
- Adoption d'une bonne pratique d'hygiène pour prévenir les infections :
 - Laver les mains avant et après les repas ;
 - Éviter le contact étroit avec es personnes malades ;
 - Couvrir la bouche et le nez pendant une toux ou un éternuement, de préférence avec un mouchoir jetable.
- La vaccination peut prévenir certains infections bactériennes ou virales qui pourraient entrainer une prescription d'antibiotiques.

Chapitre 3

Les huiles essentielles

L'aromathérapie et les huiles essentielles (HEs)

1. L'aromathérapie

L'expression aromathérapie trouve son origine chez le chimiste français René-Maurice Gattefosse, qui a employé l'huile essentielle de lavande pour traiter des blessures et des infections durant la première guerre mondiale.

C'est une branche de la phytothérapie, dérivant du grec « Aroma » qui se traduit par odeur et « therapeia » qui signifie traitement. Cette approche de soin naturel repose sur l'utilisation d'huiles essentielles, que ce soit en les employant seules ou en les mélangeant à des huiles végétales pures et naturelles. Ces dernières offrent la possibilité de rééquilibrer l'organisme physiquement et psychiquement. (Rolier, 1995)

Historique

L'histoire de l'aromathérapie peut se résumer en quatre grandes époques :

-La première est celle qui employait des plantes aromatiques telles quelles, dans l'alimentation, puis sous forme de macérations et enfin en infusions ou décoctions.

-Au cours de la seconde période, les plantes aromatiques étaient soit brûlées, soit infusées ou mises à macérer dans une huile végétale. C'est durant cette période que l'idée d'une activité associée à la substance odorante commence à émerger.

-La troisième époque, qui vise à isoler cette essence parfumée, marque l'émergence du concept des huiles essentielles, conduisant à la formation et à l'évolution de la distillation.

-Ensuite, nous entrons dans l'ère moderne, dans laquelle l'étude et la connaissance des composants des huiles essentielles permettent d'expliquer les activités physiques, chimiques, biochimiques et électriques des arômes végétaux.

Au fil des siècles, cette méthode de traitement a évolué et traversé les époques. Cependant, si l'aromathérapie a atteint son état actuel, c'est grâce aux savoirs et méthodes de production des trois grandes régions géographiques de la civilisation aromatique, telles que l'Inde, la Chine et le Bassin Méditerranéen. (Gilly, 2005)

2. Les huiles essentielles

2.1. Définition

Le terme « huile » découle de la capacité de ces substances à se dissoudre dans les graisses et de leur nature hydrophobe, le terme « essentielle » se réfère au parfum, à l'arôme plus ou moins intense émis par la plante. (Laib, 2001)

C'est un mélange de composés lipophiles, volatils et généralement liquides, synthétisés et conservés dans des tissus végétaux spécialisés.

« Les huiles essentielles sont les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes ». (Landry, 2007)

Les éléments essentiels sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau. À température ambiante, ces huiles volatiles sont généralement incolores et sous forme liquide. Ils possèdent une odeur caractéristique, sont habituellement liquides à température ambiante et ont une densité qui est généralement inférieure à l'unité. Sauf pour quelques exceptions (cannelle, sassafras et vétiver). Ils possèdent un indice de réfraction et une activité optique très élevée.

Les huiles essentielles ne contiennent pas de corps grasses contrairement aux huiles végétales, obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.) Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante. (Laib, 2011)

2.2. Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante

On trouve presque exclusivement des huiles essentielles chez les végétaux supérieurs. Les genres qui peuvent produire les composants qui les constituent sont distribués dans environ cinquante familles botaniques, dont les Lamiacées, les Astéracées, les Rutacées et les Cannabacées, les Lauracées, les Myrtacées et les Zingibéracées. (Bharet B, 2011)

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes : fleurs (rose) feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal). Racines (vétiver), rhizomes (curcuma, gingembre), fruits (anis, badiane) et graines (muscade) (Benarab, 2021)

2.3. La composition chimique des huiles essentielles

L'observation de la composition chimique des huiles essentielles suggère qu'elles peuvent être compliquées et les combinaisons variables d'éléments sont dues uniquement à deux organismes caractérisés par des origines biogénétiques :

- le groupe de terpenoïdes (C_5H_8)_n.
- le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3).

2.3.1. Les terpenoïdes

La période terpène évoque l'extraction initiale de ce type de composé à partir de la térébenthine. Les terpenoïdes présents dans les huiles essentielles sont ceux qui possèdent un faible poids moléculaire, c'est-à-dire qu'ils représentent la majorité des molécules volatiles. Ils portent dans la plupart des cas les composants globaux (C_5H_8)_n. Selon les valeurs de n, nous avons les hémiterpènes (n=1), les

monoterpènes ($n=2$), les sesquiterpènes ($n=3$), les triterpènes ($n=6$), les tétraterpènes ($n=8$) et les polyterpènes (Bakkali.F,2008).

Les composants des huiles essentielles présentent une grande diversité. En plus des terpènes, on rencontre sur place des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et d'autres composés (BASER.H,2016).

Figure 6 : Structures chimiques de quelques monoterpènes extraits des huiles essentielles

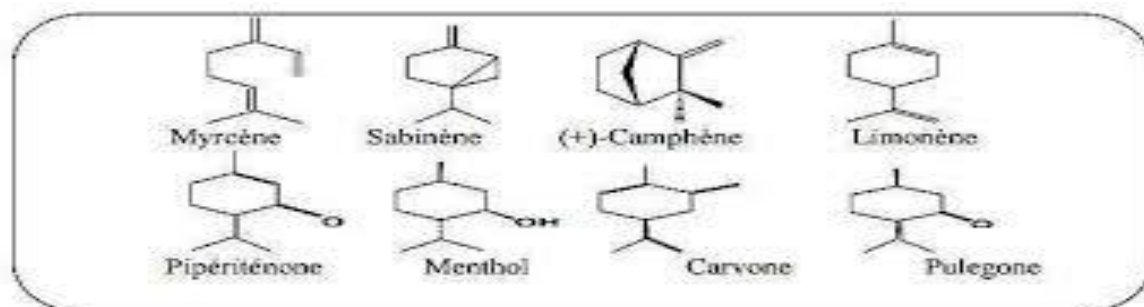
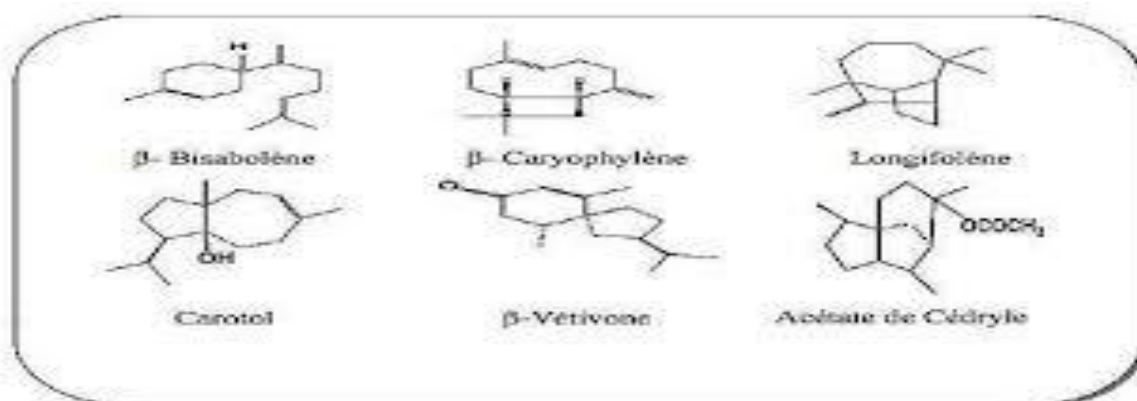


Figure 7 : Structures chimiques de quelques sesquiterpènes extraits des huiles essentielles.

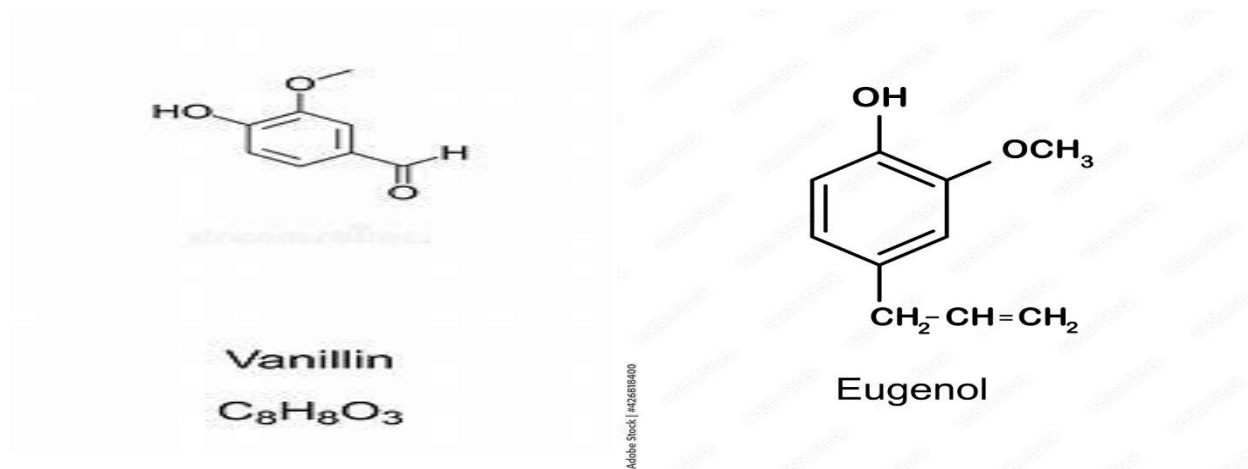


2.3.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont nettement moins courants que les précédents.

Néanmoins, ils sont perçus comme une institution essentielle parce qu'ils peuvent généralement être responsables des propriétés organoleptiques des huiles essentielles. Dans de nombreux cas, ils peuvent se révéler être l'allyle et du propénylphénols. Nous pouvons citer comme exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (Bekhchi et Abdelouahid, 2010)

Figure 8 : Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des huiles essentielles.



2.3.3. Les composés d'origines diverses

Du fait de leur procédé d'extraction, les huiles essentielles peuvent aussi renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, susceptibles d'être entraînés par hydrodistillation. Ces produits peuvent inclure de l'azote, du soufre, des carotènes ou des acides gras.

Alcools : Menthol, géraniol, linalol...

Aldéhydes : Géraniol, citronellal, ...

Cétones : Camphre, pipéritone

Phénols : Thymol, carvacrol ...

Esters : Acétate de géranyle, ...

Acides : Acide gérannique, ...

Oxydes : 1,8-cinéole, ...

Phénylpropanoïdes : Eugénol.

Terpènes : Limonène, para-cymène, ...

Autres : Ethers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène, ...

Tableau 9 : Quelques composants des huiles essentielles

Famille Biochimique	Composants majoritaires ($\geq 5-10\%$)	Composants minoritaires ($< 5\%$)	Exemples d'HE	Références
Monoterpènes	Limonène, α/β -Pinène, Myrcène	Terpinolène, δ -3-Carène, Sabinène	Pin, Romarin, Orange, Citron	[6][7][8][9]
Monoterpénols	Linalol, Menthol, α -Terpinéol, Géraniol	Citronellol, Thujanol, Lavandulol	Lavande, Menthe poivrée, Géranium, Palmarosa	[6][10][11][12]
Sesquiterpènes	β -Caryophyllène, Germacrène, α -Humulène	δ -Cadinène, α -Copaène, Bisabolol	Patchouli, Ylang-Ylang, Camomille	[6][13]
Cétones	Camphre, Thujone, Pulégone, Menthone	Carvone, Pinocamphone, Fenchone	Sauge, Romarin à camphre, Menthe	[6][16][17]
Aldéhydes terpéniques	Citral (Géranial + Néral), Citronella	Cinnamaldéhyde	Verveine citronnée, Lemongrass, Eucalyptus citronné	[6][14][15]
Esters	Acétate de linalyle, Acétate de géranyle	Acétate de bornyle, Béoate de benzyle	Lavande, Bergamote, Petitgrain	[10][19][20]
Phénols	Carvacrol, Thymol, Eugénol	Chavicol, Méthyl-eugénol	Origan, Thym à thymol, Clou de girofle	[6][18]
Oxydes	1,8-Cinéole (Eucalyptol)	Bisabolol oxyde, Linalol oxyde	Eucalyptus	[6][10][21]

3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Le choix des méthodes d'extraction est délicat en raison de la complexité et de la diversité des huiles essentielles. L'approche sélectionnée ne doit pas engendrer de discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni déclencher des réactions biochimiques, des dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de variations de pH ou provoquer une perte de composés volatils. Il est nécessaire de considérer divers paramètres et caractéristiques pour cela (Fernandez et Cabrol-Bass, 2007). Pour l'extraction des huiles essentielles. Il existe plusieurs techniques d'extraction des huiles essentielles, chaque méthode a des avantages et des inconvénients.

Tableau 10 : avantages et inconvénients de différentes méthodes d'extraction.

Procédés d'extraction	Avantages	Inconvénients
Hydrodistillation	Plus simple, rendement d'extraction élevé, huiles essentielles de bonne qualité, contacte intime entre l'eau et l'huile (DAHIA, 2009).	Chauffage prolongé et très puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (HELLAL, 2011).
Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	Absence d'altérations hydrolytiques,	Consomme beaucoup du temps (DAHIA, 2009)
Hydrodiffusion	Économie d'énergie (méthode plus rapide) (HELLAL, 2011).	Consommation de vapeur (HELLAL, 2011)
Expression à froid	Huile essentielle de haute qualité sans dégradation (DAHIA, 2009).	Rendement en huile faible, méthode non généralisée, extrait pauvre en colorants et antioxydants (DAHIA, 2009).
Extraction assistée par micro-onde	Méthode très rapide, rendement en huile élevé, gain de temps d'extraction et conditions de travail convenables (BRUNETON, 1999 ; HELLAL, 2011).	Risque de détérioration des composants responsables de l'odeur (DAHIA, 2009)
Extraction par les solvants et les graisses	Pouvoir d'extraction par les solvants très élevé que l'eau, extraits riches en composés volatils et	Problème de toxicité par les solvants organiques et résiduels (HELLAL, 2011)

	non volatils (HELLAL, 2011).	
Extraction par fluides supercritique	Le CO ₂ est relativement non toxique, ininflammable, disponible et éliminé aisément de l'extrait. Bon pouvoir d'extraction, la haute qualité d'huile extraite (HELLAL, 2011 ; DAHIA, 2009)	La baisse polarité du dioxyde de carbone supercritique qui est le solvant d'extraction le plus employé (HELLAL, 2011)

4. Principaux domaines d'application des huiles essentielles

Grâce à leurs nombreuses caractéristiques, les huiles essentielles ont acquis une importance économique majeure et connaissent un marché en perpétuelle expansion. Effectivement, elles sont mises sur le marché et revêtent une importance considérable dans divers domaines industriels tels que :

Pharmacie : grâce à leurs propriétés antiseptiques, antalgiques, antispasmodiques, apéritives, et antidiabétiques.

Alimentation : en raison de leur pouvoir anti-oxydant et de leur capacité à aromatiser.

Parfumerie et cosmétique : par leur propriété odoriférante (Ouis, 2015)

Agroalimentaires :

Grâce à leurs caractéristiques antiseptiques et aromatiques, les huiles essentielles sont utilisées tous les jours dans la cuisine (ail, laurier, thym, etc.). Elles sont également fort appréciées dans la liquoristerie (pour les boissons anisées, le kummel) et la confiserie (notamment pour les bonbons, chocolats, ...). Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation du smen par exemple par le thym et le romarin (Ouis, 2015).

Cosmétologie et parfumerie : Les HEs sont prisés dans le secteur des parfumeries et cosmétiques pour leurs vertus odoriférantes. Le secteur de la parfumerie utilise une quantité considérable d'essences (60%), notamment celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine, etc. Elles sont également utilisées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons, ... (Ouis, 2015).

Pharmacie : Les extraits de plantes sont largement utilisés dans la confection d'infusions (menthe, verveine, thym, etc.) et sous forme de préparations

galéniques. Plus de 40% des médicaments contiennent des ingrédients actifs dérivés de plantes, comme la gastralgine est un digestif antiacide qui se compose d'HEs de carvi.

Elles masquent également l'odeur désagréable des médicaments pris par voie orale grâce à leurs propriétés aromatisantes. De nombreux médicaments disponibles en pharmacie contiennent des HEs, notamment les collyres, les crèmes, les élixirs, ...(Ouis,2015).

5.Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés puissants et hautement actifs qui constituent une réserve inépuisable de remèdes naturels. Toutefois, il est crucial de noter que l'automédication fréquente et excessive, notamment en matière de dosage et d'application (interne ou externe), peut s'avérer nuisible. Cela peut provoquer des effets secondaires plus ou moins préjudiciables pour l'organisme (allergies, coma, épilepsie, etc.), en particulier chez les individus sensibles, tels que les enfants, les femmes enceintes et allaitantes, les personnes âgées ou allergiques (Da Silva, 2010).

6.Conservation des huiles essentielles

Du fait de leur volatilité rapide, de leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles nécessitent d'être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement (Valnet, 1984 ; Salle et Pelletier, 1991).

Partie II : étude expérimentale

Chapitre 1

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Notre partie expérimentale a été réalisée au sein :

De laboratoire de recherche « des substances naturelles et bioactives », département de chimie, faculté des sciences, université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen.

De laboratoire de recherche « Antibiotiques, antifongiques, physico - chimie, synthèse et activité Biologique », département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bakr Belkaïd, Tlemcen.

I. Matériel

• Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est la partie aérienne d'*Aloysia citrodora* ; qui s'appellent localement « Tizana », Récoltée au mois d'Avril 2025 dans la région d'Ouzidane, la wilaya de Tlemcen.

• Souches bactériennes utilisées

L'activité antibactérienne des extraits aqueux, d'huile essentielle et de l'hydrolat d'*Aloysia citrodora*, a été évaluée contre quatre souches bactériennes.

Tableau 11 : Souches bactériennes utilisées dans le test antibactérien.

Souche	Gram	Familles	Référence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	Pseudomonaceae	ATCC 25922
<i>Escherichia. Coli</i>	Négatif	Enterobacteriaceae	ATCC 27853

II. Méthodes

1. Etude phytochimique

1.1. Préparation de l'échantillon

Afin de simplifier l'obtention d'un extrait brut à partir de la partie aérienne de la plante examinée, deux étapes de préparation de ce matériel ont été réalisées :

Séchage : Le processus de séchage des feuilles d'*A. citriodora* est réalisé à l'abri du soleil, à température ambiante, pendant une semaine.

Broyage : Les feuilles séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à devenir une poudre.

1.2. Méthode d'extraction

1.2.1. Extraction sous reflux

Cette méthode d'extraction est adoptée afin d'obtenir une quantité maximale des extraits bruts de la partie aérienne de la plante, à savoir les feuilles et les tiges. En employant la technique d'extraction sous reflux.

Principe

Le principe du montage à reflux repose sur le chauffage d'un mélange réactionnel tout en prévenant la perte de réactifs ou de produits gazeux. Ceci favorise l'accélération des réactions chimiques en maintenant une température stable, ce qui stimule la rapidité de la réaction. Au cours du processus, un condensat se crée sur les parois froides du réfrigérant et des gouttes de liquide tombent régulièrement dans le mélange. Garantissant ainsi que les réactifs restent dans le système. (Solomons,2017)

Préparation de l'extrait sec brut

On mélange 50g de la partie aérienne d'*A. citrodora*, séchée et broyée, avec 500ml d'eau distillée, pour récupérer un extrait sec brut. On subit une extraction sous reflux dans un ballon mono col équipé d'un réfrigérant. La solution obtenue a été refroidi est filtrée à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat est ensuite soumis à une évaporation par rotavapeur. Est ensuite évaporé en cuire dans une étuve à une température de 40 °C pour éliminer l'eau pendant 72h. Le résidu sec obtenu est gratté puis conservé au réfrigérateur dans des piluliers.

1.2.2. Extraction de l'huile essentielle : hydrodistillation

Principe

L'hydrodistillation est une technique classique employée pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques. Elle se base sur l'emploi de la chaleur et de l'eau pour extraire les composés volatils contenus dans les éléments végétaux (feuilles, fleurs, écorce, etc.). La plante est soit immergée dans l'eau, soit positionnée au-dessus, et ensuite, l'ensemble est porté à ébullition. Ainsi, les substances aromatiques sont entraînées par la vapeur d'eau et sont ensuite condensées par un processus de refroidissement. L'essence est collectée dans un essencier, où l'huile essentielle se dissocie naturellement de l'eau en raison de sa différence de densité. Cette méthode, facile et couramment appliquée, permet d'extraire des huiles essentielles sans l'usage de solvants chimiques, tout en maintenant une grande part de leurs qualités aromatiques et curatives (Chemat,2012).

Figure 9 : appareillage de l'hydrodistillation (images personnelles)

Mode opératoire

Une quantité de 550g de la partie aérienne séchées et broyées d'*A. citrodora* et mise dans un ballon contenant d'eau distillés. L'eau a été chauffé jusqu'à l'ébullition pendant 2 heures et 30 minutes. Les vapeurs hétérogènes sont condensées par un réfrigérant, ce qui entraîne la séparation de l'eau et de l'huile par différence de densité. L'huile essentielle obtenue est stockée à une température de -4°C jusqu'à son utilisation. Cette méthode est réalisée à l'aide d'un appareil de type Clevenger.

Calcul des rendements

Les rendements d'huile essentielles et d'extract sec sont calculés selon la formule :

$$R (\%) = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

R : Le rendement exprimé en %

m1 : masse de l'huile essentielle ou de l'extract sec obtenue.

m2 : masse de la matière végétale utilisée.

- **Traitement de l'hydrolat**

Pour préparer l'échantillon, 120 ml d'hydrolat sont mesurés dans un bécher, puis transférés dans une ampoule à décanter pour réaliser une extraction liquide-liquide. On y ajoute 30 ml de chloroforme, puis l'ampoule est fermée et agitée pendant quelques minutes, en prenant soin d'ouvrir régulièrement le robinet afin de dégazer et libérer la pression. Une fois les phases bien séparées (phase aqueuse en haut, phase organique en bas), la phase organique est récupérée dans un bécher propre. Cette extraction est répétée deux fois avec 20 ml de solvant frais afin d'optimiser le rendement, et les phases organiques sont ensuite combinées. Le mélange organique est séché en ajoutant quelques grammes de sulfate de sodium anhydre pour éliminer l'eau résiduelle ; on laisse reposer 10 à 15 minutes en agitant occasionnellement, puis on filtre pour retirer le desséchant. Enfin, le solvant est évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif ou sous un léger flux d'azote jusqu'à obtenir un volume final de 1 à 4 ml. L'extrait concentré est transféré dans un flacon en verre ambré hermétique pour conservation.

2. Analyses phytochimiques qualitatives

2.1. Tannins

Après la préparation de l'extrait, les tanins sont divisés en deux classes principales : hydrolysables et condensés. Un test simple peut être utilisé pour détecter leur présence tels que le test au chlorure ferrique (FeCl_3). En ajoutant 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de FeCl_3 (1 pourcent) à 2 ml de chaque extrait. Une coloration bleu noirâtre indique la présence des tanins gallique. (Kalla, 2012)

2.2. Flavonoïdes

Prendre 1ml de l'extrait dans un tube à essai, et on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et une petite quantité de poudre de magnésium métallique. L'observation de la formation de la couleur rose, rouge, orange indique la plante peut contenir de flavonoïdes. (Tadros, 1979)

2.3. Saponines

Les saponines sont des glycosides caractérisés par leur capacité à former une mousse stable lorsqu'elles sont agitées dans l'eau. 2 ml à 4ml d'extrait sont agités pendant 15 secondes et laisser reposer pendant quelques minutes, une apparition d'une mousse persistante indique la présence, l'absence ou une faible concentration de saponines dans l'extrait. Ce test qualitatif est couramment utilisé pour des analyses préliminaires avant des tests quantitatifs pour caractériser plus en détails les saponines présentes. (Harbone, 1998)

2.4. Alcaloïdes

Ce test repose sur des réactions spécifiques entre les alcaloïdes et des réactifs comme le Wagner. En ajoutant 5 ml d'HCl (1%) à 1 ml de l'extrait dans un tube à essai, le mélange est chauffé au bain-marie pendant 10 minutes, puis la solution obtenue est traitée avec le réactif de Wagner. La présence des alcaloïdes dans l'extrait est indiquée par la formation d'un précipité marron. (Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001)

3. Évaluation des activités biologiques

3.1. Évaluation de l'activités antioxydante

3.1.1. Méthode de Piégeage du radical DPPH

Principe

DPPH est un radical libre et stable, il présente un maximum d'absorbance dans l'intervalle 515 - 520 nm, caractérisé par une couleur violette intense. Il possède un électron non apparié sur l'un des atomes d'azote, ce qui permet d'évaluer une capacité anti-radicalaire. Cette technique se base sur la transformation du radical DPPH (de couleur violet) en DPPH-H (sa version non radicale) qui présente une couleur jaune. Le passage à cette couleur est proportionnel à la capacité des antioxydants, manifesté par une réduction de l'absorbance à 517 nm (Boligon,2014).

Protocole

- **Préparation de la solution de DPPH**

6mg de DPPH a été dissous dans 100 ml d'éthanol à 96%, puis le mélange a été agité afin d'obtenir une solution totalement soluble. On place le produit dans un flacon opaque, puis on le recouvre de papier aluminium avant de le ranger au réfrigérateur pour éviter toute détérioration (Boligon,2014).

- **Mode opératoire**

Une solution éthanolique de DPPH et mélanger avec différentes concentrations d'huiles essentielles et d'extrait aqueux d'*A. citrodora*. Dans des tubes à hémolyse, 1 ml de chaque dilution des extraits est mélangé à 1 ml de la solution éthanolique du DPPH, puis cette mixture est laissée incuber pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante. Utilisez un spectrophotomètre UV-visible pour mesurer l'absorbance à 517 nm. Le témoin négatif est constitué d'1 ml d'éthanol et 1 ml de la solution de DPPH. L'acide ascorbique (contrôle positif) et l'huile essentielle sont préparés dans les mêmes conditions opératoires.

L'activité de piégeage des radicaux libres a été exprimée en pourcentage (pourcentage d'inhibition) selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{DO_{\text{contrôle}} - DO_{\text{échantillon}}}{DO_{\text{contrôle}}} \times 100$$

(Sriaandhal S, et al. 2025)

Les valeurs IC₅₀ sont déterminées graphiquement à partir de la courbe d'inhibition en pourcentage pour diverses concentrations des extraits examinés.

La capacité anti-radicaux de nos divers extraits est évaluée en fonction de l'IC₅₀, qui est définie comme la concentration requise pour diminuer 50 % du radical DPPH. Plus l'IC₅₀ est faible, plus l'extrait possède une grande activité antioxydante.

Le pouvoir anti radicalaire ARP est calculer comme suit :

$$\text{ARP} = \frac{1}{IC_{50}}$$

Figure 10 : réduction du radical DPPH pour les différentes concentrations
(Image personnelle)



3.1.2. Méthode de la réduction du fer FRAP

Principe

La méthode du pouvoir réducteur de fer repose sur la variation de couleur qui se produit lorsque le fer est réduit d'ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) en présence d'un antioxydant. La forme simplifiée présente une couleur bleu-vert caractéristique du fer ferreux (Fe^{2+}). On évalue l'intensité de cette couleur à 700 nm (KARAGÖZLER,2008).

Protocole

- **Préparation des solutions**
 - La solution de trichloracétique TCA (10%) :10g de TCA a été diluée dans 100mL d'éthanol à 96%.

- La solution de chlorure ferrique FeCl_3 (0,1%) : 0,1 g de FeCl_3 a été dissous dans de l'eau distillée dans une fiole jaugée de 100 ml.
- La solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%) : 1 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dissous dans 100 ml d'eau distillée.
- Solution tampon : nous avons préparé une solution tampon en combinant 28,39g de NaH_2PO_4 dissous dans 1 L d'eau distillée avec 23,99g de Na_2HPO_4 également dissous dans 1L d'eau distillée, dont le pH = 6,6.

Mode opératoire

Dans les tubes hémolytiques, nous avons ajouté 1mL de chaque dilution des extraits de la plante, puis on y ajoute 0.5 ml de tampon phosphate (0,2M, pH=6.6) et 0.5 ml d'une solution contenant du ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%). Le mélange obtenu est incubé à une température de 50°C pendant une durée de 20 minutes. Par la suite, l'arrêt de la réaction se fait en ajoutant 0.5mL d'une solution de TCA (10%) dans chaque tube. Le mélange est soumis à une centrifugation à 3000 tours par minute pendant une durée de 10 minutes afin de séparer les composants, suivie d'une période de repos de 10 minutes. Ensuite, un volume de 1mL de surnageant est prélevé dans chacun des tubes. Ce prélèvement est par la suite ajouté à 1mL d'eau distillée et 0,2mL d'une solution de FeCl_3 (0,1%). Pour chaque échantillon, on mesure l'absorbance à 700 nm. On prépare le blanc en remplaçant l'extrait par le solvant (éthanol).

Figure 11 : réduction d'ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) FRAP pour les différentes concentrations. (Image personnelle)



3.2. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire

• Méthode de dénaturation thermique de protéine d'albumine

Principe

Cette méthode repose sur la capacité des divers extraits à empêcher la dénaturation de

L'albumine bovine sérique. La dénaturation de l'albumine provoquée par la chaleur peut conduire à une réponse mimant à l'expression d'antigènes liée à une hypersensibilité de Type III, réaction associée à des affections telles que les maladies sériques, la glomérulonéphrite etc. (Adarsh verma et al.,2011).

Mode opératoire

- Préparation de la solution aqueuse de Bovine sérum Albumine (BSA) (1 %) :

Pour préparer une solution de BSA (bovine sérum albumine) à 1 %, on a pesé 1 g de BSA que l'on a ensuite introduit dans un bécher propre. Nous avons ajouté progressivement une quantité d'eau distillée tout en agitant doucement afin de favoriser la dissolution complète de la protéine. Une fois le BSA complètement dissous, nous avons complété le volume final à 100 ml avec de l'eau distillée. La solution a été homogénéisée, puis conservée au réfrigérateur jusqu'à son utilisation.

- Préparation de la solution tampon :

Pour la préparation du tampon phosphate à pH 6,4, nous avons commencé par peser précisément 2,5 g de Na_2HPO_4 , 2,5 g de NaH_2PO_4 et 8,2 g de NaCl . Les poudres ont ensuite été introduites dans un bécher propre, puis nous avons ajouté environ 400 à 500 ml d'eau distillée. Le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à dissolution complète des sels. Le pH de la solution a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre calibré, puis ajusté à 6,4 en ajoutant quelques gouttes de NaOH ou de HCl selon le besoin. Une fois le pH atteint, le volume final a été complété à 1 L avec de l'eau distillée, puis la solution a été homogénéisée. Enfin, le tampon a été conservé à température ambiante en attendant son utilisation.

On a préparé 4 solutions :

- La solution 1 : 1 ml des extraits aqueux à différentes concentrations sont ajoutés avec 1,4 ml de la solution tampon et 100 μL de la solution aqueuse de Bovine sérum Albumine (BSA) (1 %).
- La solution 2 : nous avons dilué l'huile essentielles dans l'éthanol 96% puis on ajoute un volume de 1mL de cet extrait à différentes concentrations avec 1,4mL de la solution tampon (pH=6,4) et 100 μL de la solution aqueuse de Bovine sérum Albumine (BSA) (1 %).
- Le contrôle négatif : Est composée de 1,4 ml de la solution tampon (pH=6,4) avec 1mL d'éthanol et 100 μL de la solution aqueuse BSA.
- Le contrôle positif : Le diclofénac a été utilisé comme standard et testé dans les mêmes conditions. 1ml de solution de diclofénac avec 100 μL de la solution aqueuse BSA.

Un blanc pour l'extrait (dilué dans l'eau distillée) a été préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'albumine par de l'eau distillée, et l'éthanol pour l'huile essentielles et l'extrait (dilué dans l'éthanol). Toutes les solutions ont été incubées à 37° C pendant 15 min, ensuite à 70° C pendant 5 min, après refroidissement des tubes, l'absorbance a été lue à 660 nm.

Expression des résultats

La formule ci-dessous a été utilisée pour calculer le taux d'inhibition de la dénaturation de l'albumine :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{DO \text{ contrôle} - DO \text{ échantillon}}{DO \text{ contrôle}} \times 100$$

(Sriaandhal S, et al. 2025)

3.3. Activité antimicrobienne

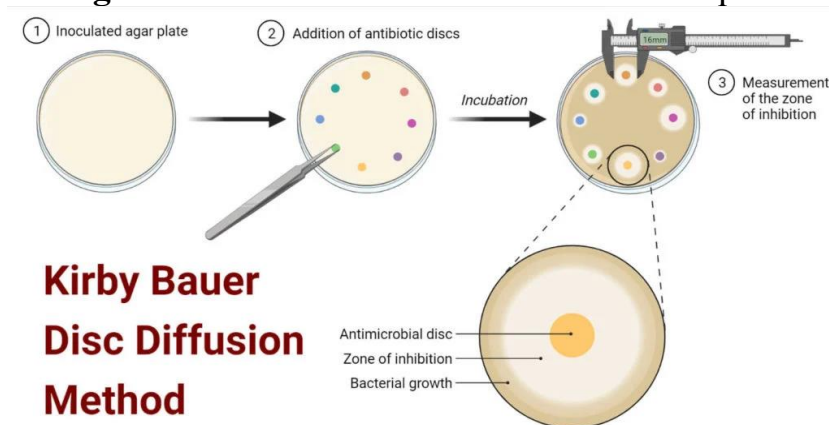
Le travail antimicrobien exige une stérilisation rigoureuse pour prévenir les problèmes de contamination. Parmi les diverses solutions, le matériel et les milieux de culture doivent être stérilisés par le biais de l'autoclavage.

3.3.1. Evaluation qualitative : Aromatogramme

L'analyse qualitative de l'activité antibactérienne d'une huile essentielle ou d'un extrait se fait par la technique de diffusion sur disque méthode (Kirby- Bauer), grâce à sa simplicité et son efficacité pour évaluer la sensibilité ou la résistance des bactéries.

La technique se base sur la capacité migratoire du composé examiné en milieu solide (MH) dans une boîte de pétri, suite à une période déterminée de contact entre le produit et le micro-organisme visé. On évalue l'action antibactérienne sur la cible par la détermination de la zone d'inhibition. [5]

Figure 12 : Méthode de la diffusion sur disques.



- **Préparation de milieu de culture MH (Mueller Hinton)**

La préparation du milieu solide Mueller-Hinton s'est effectuée en dissolvant 21 g de poudre MH et 20 g d'agar-agar dans un litre d'eau distillée. Après avoir pesé les composants à l'aide d'une balance de précision, ceux-ci ont été ajoutés progressivement dans un bécher contenu d'eau, sous agitation manuelle afin d'éviter la formation de grumeaux. Le mélange a été déposé par la suite sur une plaque chauffante munie d'un agitateur magnétique. L'agitation continue a permis une dissolution homogène des poudres pendant le chauffage. Une fois que la solution bout, elle a été versée dans des flacons puis stérilisée à l'autoclave à 121 °C pendant 15 à 20 minutes. Le milieu a ensuite été laissé à tiédir à une température de 45 à 50 °C avant d'être versé dans des boîtes de Petri stériles pour les tests microbiologiques.

- **Préparation de l'eau physiologique**

Elle se prépare en dissolvant 0,9 g de NaCl dans 100 ml d'eau distillée tout en agitant pendant quelques minutes, puis on la répartit dans des tubes en verre à visse. La préparation de l'eau physiologique est destinée à l'inoculation des souches.

- **Stérilisation du matériel**

L'eau physiologique, l'eau distillée, les tubes à essai, les tubes à visse, les embouts, le milieu de culture et MH (Mueller Hinton), les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) ainsi que les pinces enveloppées d'aluminium ont subi une stérilisation dans l'autoclave à 121°C pendant 2 heures.

- **Préparation de l'inoculum bactérien**

- Les deux souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritive (MH) en boîte de pétri à l'aide d'une anse de platine, puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien.
- A l'aide de l'anse de platine, quelques colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne à tester sont alors raclées, déchargées dans un tube contenant 10 ml de l'eau physiologique puis homogénéisées à l'aide d'un vortex.
- Nous avons fait la lecture de la suspension bactérienne à une densité optique de (0.08 à 0.10), à la longueur d'onde 625 nm.
- L'ensemencement doit se faire au moins en quelques minutes qui suivent la préparation de l'inoculum à l'aide d'un écouvillon.

- **Préparation des boîtes de pétri**

Le milieu de culture (Muller Hinton) stérilisé par l'autoclave est versé dans les boîtes de pétri à 4 mm de hauteur après la liquéfaction et ont été laissés quelques minutes jusqu'à la solidification.

- **Préparation des dilutions**

- L'extrait : la solution mère a été préparée par dissolution de 100mg d'extrait dans 1 ml d'eau distillée, puis nous avons préparé une gamme de dilutions contenant chaque tube 500µl d'eau distillée, on prélève 500µl de la solution mère et la transfère dans le 1^{er} tube de la gamme, et ensuite nous avons prélevé 500µl de ce dernier et le transfère dans le suivant, et ainsi de suite.
- Le contrôle positif et l'hydrolat : les solutions mères de la gentamicine et de l'hydrolat sont d'une concentration de 1mg/ml, et la gamme des dilutions de chaque solution a été préparée selon les mêmes étapes précédentes.
- L'huile essentielle : a été utilisée pure.

- **Ensemencement bactérienne**

Après la préparation et l'identification des boîtes de pétri nous avons fait l'ensemencement des bactéries dans un milieu stérile en présence de bec bunsen.

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube.

- **Dépôts des disques de HE, des extraits et de l'hydrolat**

À l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen les disques de papier Whitman de 6 mm de diamètre sont placés sur la surface de la gélose MH inoculée.

- Pour l'extrait et l'hydrolat, chaque disque a été imbibé dans des dilutions de différentes concentrations (SM ; 1/2 ; 1/4 ; et 1/8).
- Pour l'huile essentielle : nous avons ajouté 10µl de HE pure sur les disques à l'aide d'une micro pipette.
- Pour le contrôle : nous avons utilisé la gentamicine, et imbibé chaque disque dans les différentes concentrations (SM ; 1/2 ; 1/4 ; et 1/8).

Incubation et lecture

Après dépôt des extraits, de l'hydrolat et de HE, les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 h. L'effet des extraits, de l'hydrolat, de HE et de l'antibiotique se traduit par l'apparition d'une zone transparente autour du disque correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (*Choi et al. 2006*).

3.4. La synergie entre l'huile essentielle et l'antibiotique gentamicine

L'évaluation de la synergie entre une huile essentielle (HE) et un antibiotique a été réalisée à l'aide de la méthode de double diffusion en gélose, également appelée antibiogramme modifié. Cette technique simple, visuelle et qualitative permet d'analyser les interactions potentielles entre deux agents antimicrobiens en observant les modifications des zones d'inhibition autour des disques. Pour commencer, une suspension bactérienne standardisée (0,5 unité McFarland, équivalente à environ $1,5 \times 10^8$ UFC/mL) est préparée à partir d'une culture fraîche de la souche testée. À l'aide d'un écouvillon stérile, cette suspension est uniformément ensemencée sur la surface d'un milieu Mueller-Hinton Agar, conformément aux normes du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023).

Après solidification du milieu, un disque imprégné d'un antibiotique standard (gentamicine) est placé au centre de la boîte de Pétri. Simultanément, un disque de papier stérile (6 mm de diamètre), imbibé d'un volume défini d'huile essentielle pure (environ 10 μ L), est disposé à une distance fixe de 2 cm du disque antibiotique. L'ensemble est ensuite incubé à 37 °C pendant 24 heures.

À l'issue de l'incubation, les zones d'inhibition formées autour de chaque disque sont observées et mesurées. Une augmentation du diamètre d'inhibition vers le disque d'huile essentielle par rapport à l'antibiotique seul indique une synergie entre les deux substances. En revanche, l'absence de modification suggère une interaction indifférente, tandis qu'une réduction de la zone pourrait témoigner d'un effet antagoniste. Cette méthode est particulièrement bien adaptée aux huiles essentielles, car elle permet de surmonter certaines limitations liées à leur faible solubilité dans les milieux aqueux. (CLSI, 2004).

Elle est également recommandée comme approche préliminaire avant des tests plus quantitatifs tels que la méthode du "checkerboard".

Chapitre 2

Résultats

1. Calcul des rendements

1.1. Rendement de l'extrait sec brut

Après le grattage, nous avons obtenu 2,985g d'un extrait en poudre d'une couleur marron à partir de 50g du matériel végétal, le rendement a été de : **R = 5,97 %**

Un rendement de 5,97% pour 50g d'*A. citrodora* est potentiellement plausible, en fonction du solvant, la durée et de la méthode d'extraction utilisés.

Dans une étude antérieure portant sur la même espèce, qui a été récoltée à Mila, a porté un rendement d'extraction éthanolique de 8 % et aqueux de 14,2%. (Bennour Hasna et al. 2022)

1.2. Rendement de l'huile essentielle

Après la récupération d'huile essentielle d'*A. citrodora* par hydrodistillation à partir de 550g du matériel végétal, le rendement a été de **0,412%**

Dans une étude menée pour cette espèce, qui a été récoltée à Tébessa, a fourni un rendement de $(0,24 \pm 0,05)$ %. (Rabhallah Chaimaa, Aouachria Aya, 2020). Le même rendement a été obtenu pour une autre étude effectuée dans la même Wilaya de Tébessa en 2018 pour cette espèce. (Chafia Belfar, 2018)

Selon une étude réalisée sur la verveine odorante récoltée à Constantine, un rendement de 0,51% a été obtenue en utilisant l'hydrodistillation (Zermane Rayane et al., 2021)

2. Analyses phytochimiques qualitatives

Les résultats des différentes tests phytochimiques sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 12 : résultats de différentes tests phytochimique de l'extrait sec brut de l'*A. citrodora*

Les composés	La présence
Les tannins	+
Les flavonoïdes	+
Les saponines	+/-
Les alcaloïdes	+

+ : test positif ; - : test négatif ; +/- : des traces de la molécule testée

Lorsque le FeCl_3 est utilisé dans la détection des tannins dans l'extrait végétal, il a produit une réaction colorée qui a donné une coloration allant du vert au bleu, cela indique la présence des tannins.

L'ajout de l'acide chlorhydrique HCL et de tournures de magnésium, a conduit à l'apparition d'une couleur orangée. Cela indique que c'est un test positif.

Après une bonne agitation de l'extrait, il y a une apparition d'une fine bande de mousse, cela indique qu'il y a des traces de saponines dans l'*A. citrodora*.

Le volume de l'extrait traité par le réactif de Wagner a provoqué un précipité brun, ce qui indique la présence des alcaloïdes dans la plante.

3. Evaluation des activités biologiques

3.1. Activité antioxydante

3.1.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante d'huile essentielle et de l'extrait sec brut d'*A. citrodora*, a été évaluée par spectrométrie à une longueur d'onde de 517 nm, en déterminant les taux du piégeage du radical libre DPPH, de sorte que la capacité antioxydante est proportionnelle à la concentration.

L'analyse de l'activité antioxydante de l'extrait et d'huile essentielle a impliqué la mesure de leur absorbance à différentes concentrations. A partir de ces données, et en appliquant la formule de pourcentage d'inhibition, ont ensuite servi à établir des courbes. Ces derniers visualisent la relation entre la concentration de l'extrait et d'huile essentielle, et le pourcentage d'inhibition obtenu. Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux et les figures ci-dessous :

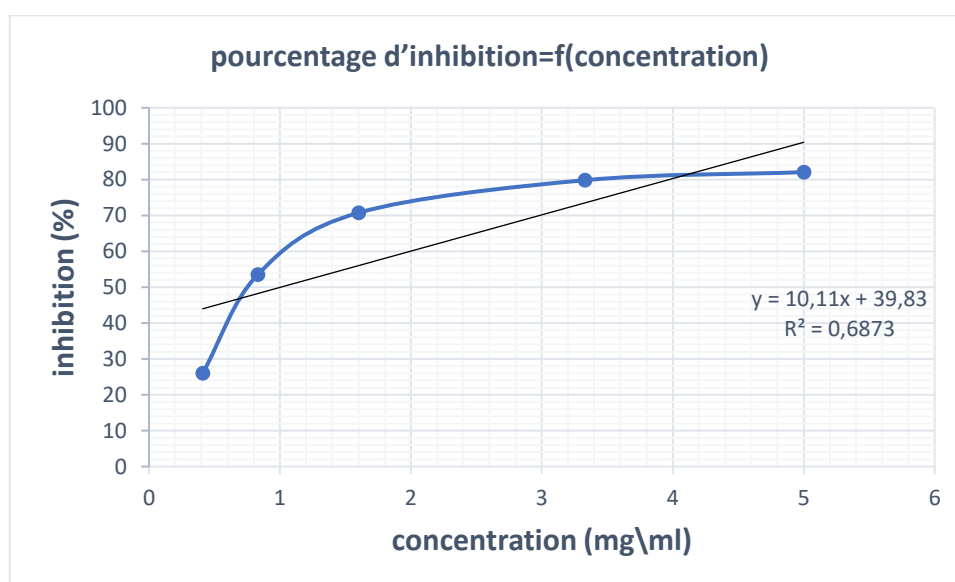


Figure 13 : le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait brut de l'*A. citrodora*

Figure 14 : le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de d'huile essentielle de l'*A. citrodora*

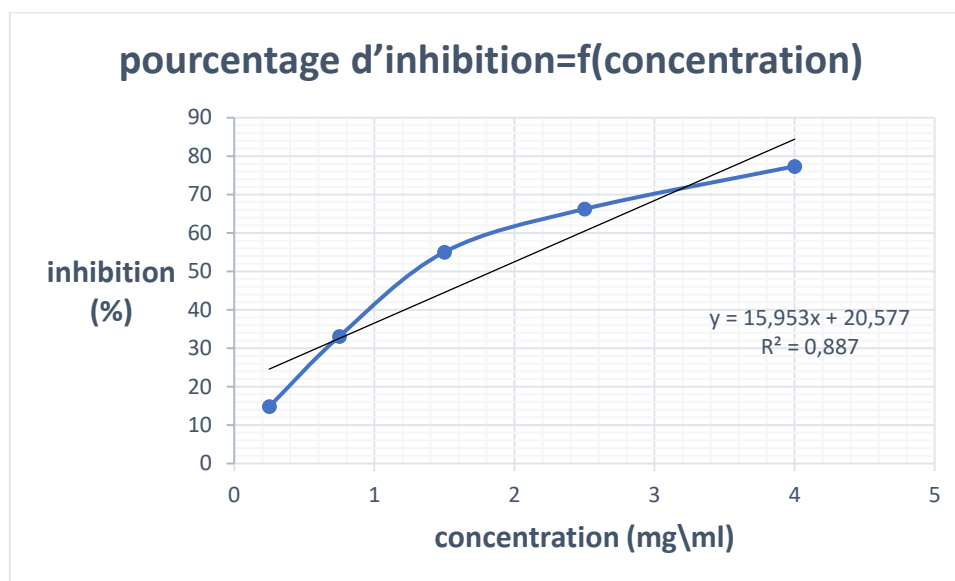
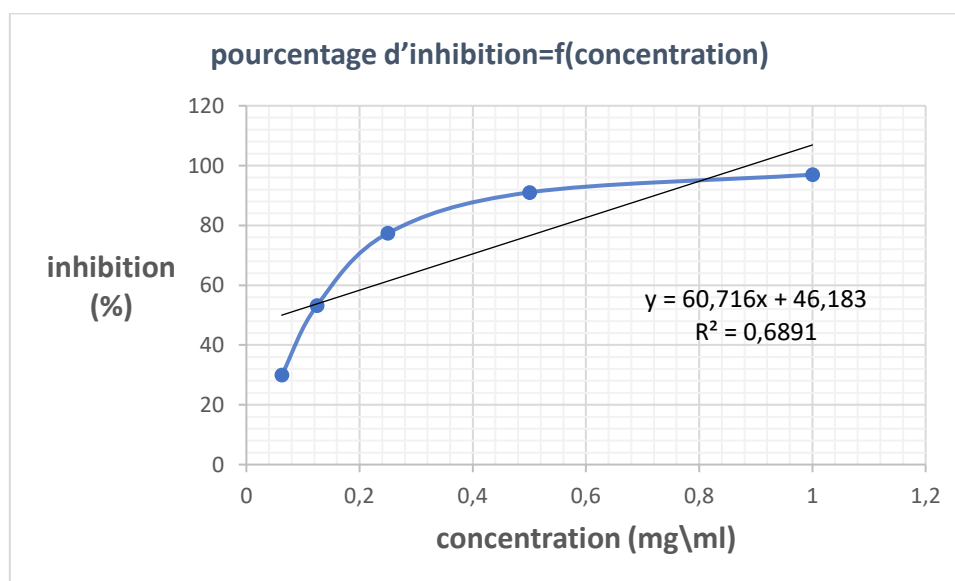


Figure 15 : le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations d'acide ascorbique



Les graphes mettent en évidence que le pourcentage d'inhibition du DPPH croît avec l'augmentation de la concentration d'échantillon. Une forte activité antiradicalaire de l'extrait brut (82,6%) à une concentration de 5 mg\ml, comparativement à l'huile essentielle (77,35%) à une concentration de 4 mg\ml. L'acide ascorbique se distingue par une inhibition supérieure (96%) à une concentration moindre (1 mg\ml) que l'extrait et l'huile essentielle.

Calcul d'IC50 et d'ARP

Tableau 13 : les valeurs des IC50 de l'extrait, d'huile essentielle d'*A. citrodora* et de l'acide ascorbique.

Solution	IC50 (mg\ml)	ARP
Acide ascorbique	0,06	16,66
Extrait sec brut	1,00	1
Huile essentielle	1,65	0,60

Les valeurs d'IC50 présentées dans le tableau, indiquent que l'huile essentielle d'*A. citrodora* possède l'activité antiradicalaire la plus faible (0,60), indiquée par une IC50 de 1,65 mg\ml. L'extrait sec brut présente une activité significativement supérieure (1) qui se révèle par une IC50 de 1 mg\ml. Tandis que l'acide ascorbique démontre la plus forte activité antiradicalaire (16,66) avec une IC50 de 0,06 mg\ml.

3.1.2. Le pouvoir réducteur du fer

Notre évaluation par cette méthode a porté sur différentes concentrations de l'extrait et d'huile essentielle, en utilisant l'acide ascorbique, un antioxydant de référence puissant, comme contrôle positif. Les lectures d'absorbances à une longueur d'onde de 700 nm, obtenues pour les différentes concentrations des échantillons ont servi à tracer les courbes suivantes :

Figure 16 : le pouvoir réducteur de l'huile essentielle d'*A. citrodora* par la méthode de FRAP.

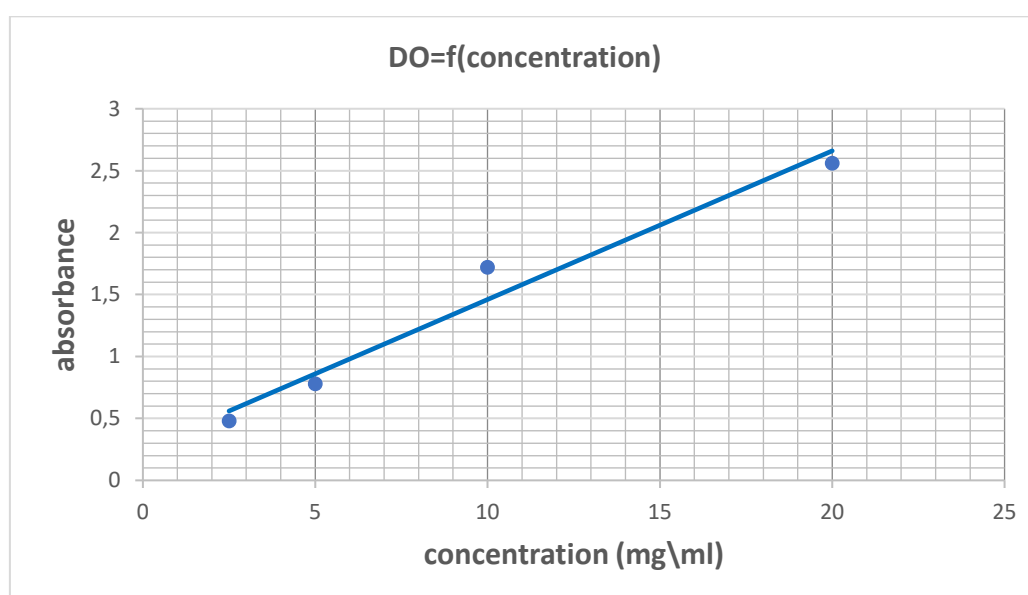


Figure 17 : le pouvoir réducteur de l'extrait brut d'*A. citrodora* par la méthode de FRAP.

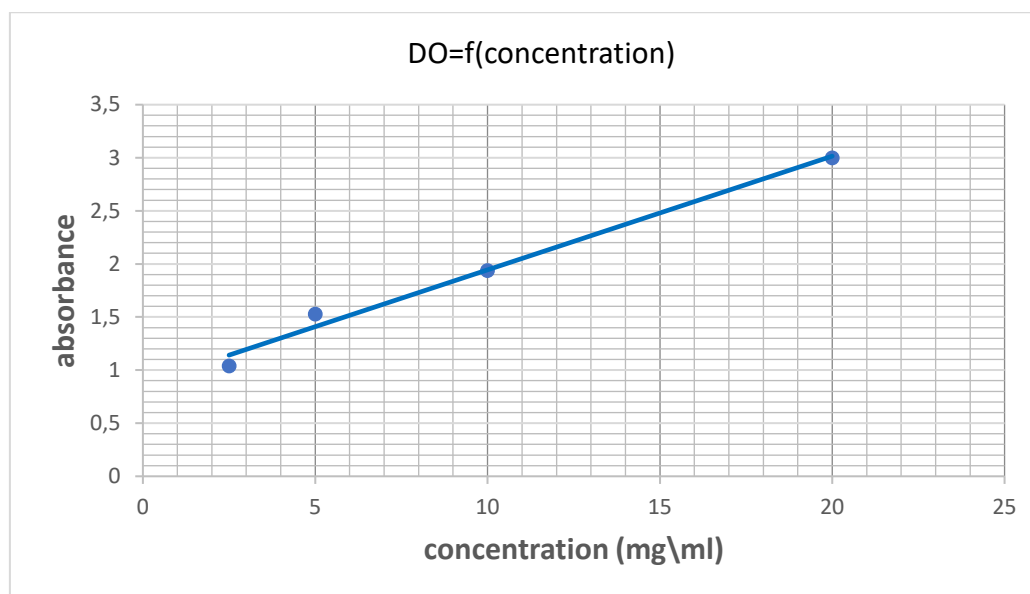
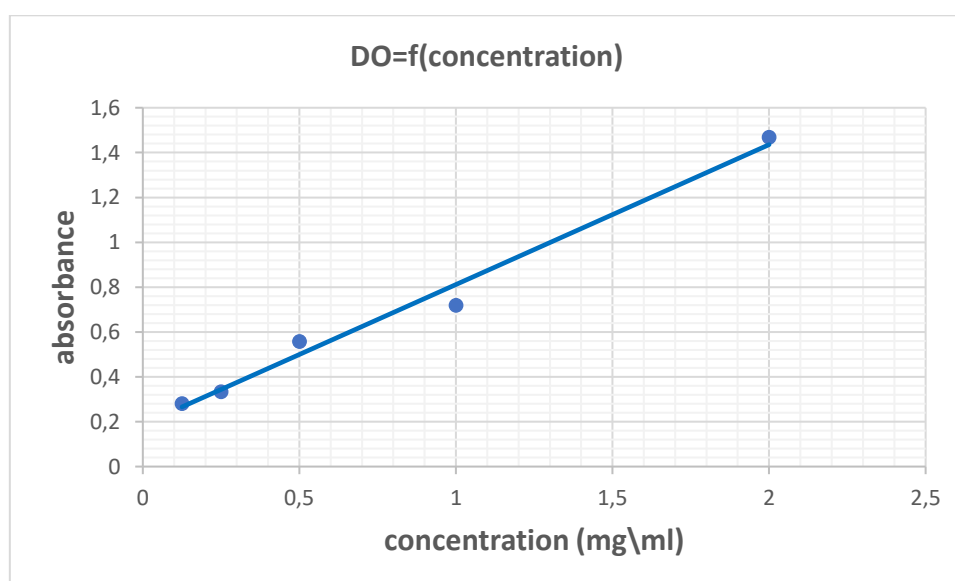


Figure 18 : le pouvoir réducteur de l'acide ascorbique par la méthode de FRAP.



L'analyse des courbes révèle une réduction du Fe^{+3} en Fe^{+2} , qui augmente proportionnellement à la concentration des échantillons. En effet, le pouvoir réducteur augmente avec la concentration de l'extrait sec brut et de l'huile, à une concentration de 2,5 mg/ml, l'extrait se distingue par un pouvoir réducteur élevé (DO = 1,04), surpassant l'huile (DO = 0,46). Il est important de noter que malgré cette activité, la capacité de réduction du fer de l'extrait et de l'huile reste nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique, dont la DO atteint 1,46 à une concentration de 2 mg/ml, indiquant un pouvoir réducteur considérablement le plus puissant.

3.2. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle et de l'extrait d'*Aloysia citrodora* a été mesurée par spectrométrie à 660nm. Cette évaluation repose sur la détermination du taux de l'inhibition de la dénaturation de l'albumine, où la capacité anti-inflammatoire est proportionnelle à la concentration de l'échantillon.

L'analyse de cette activité a consisté à mesurer l'absorbance de l'échantillon à différentes concentrations. Les résultats obtenus ont été ensuite utilisés pour calculer le pourcentage d'inhibition, permettant ainsi de tracer les courbes suivantes :

Figure 19 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de différentes concentrations de l'huile essentielle d'*A. citrodora*.

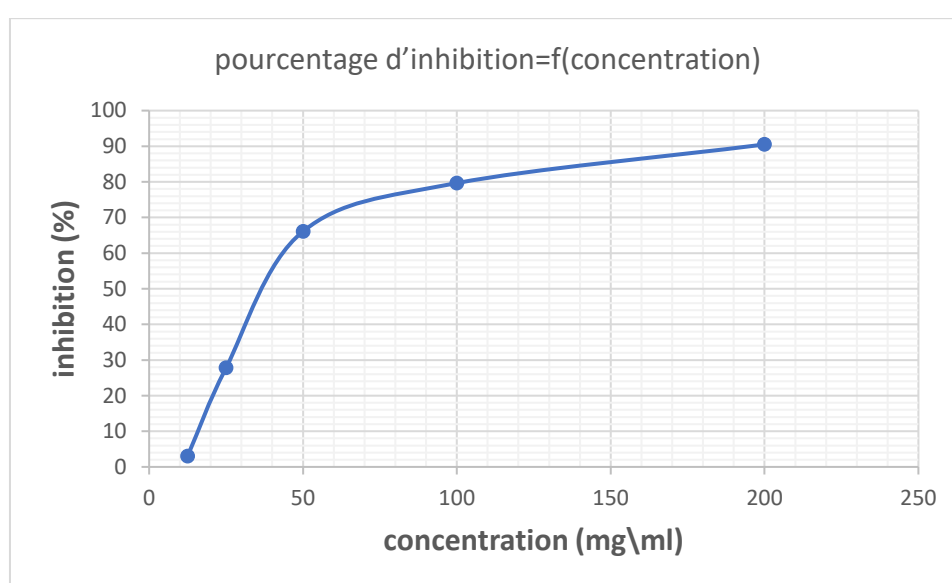


Figure 20 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut d'*A. citrodora* dilué dans l'eau distillé.

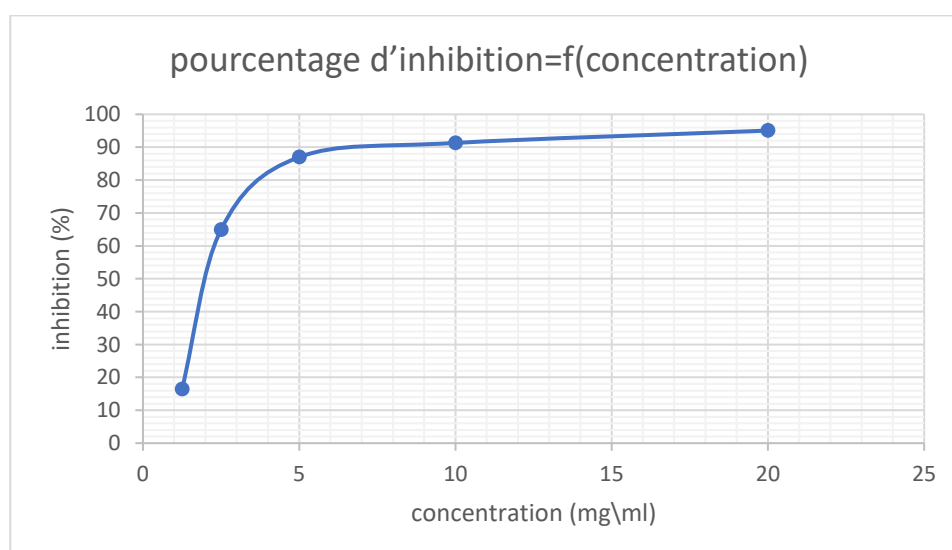


Figure 21 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de différentes concentrations de l'extrait brut d'*A. citrodora* dilué dans l'éthanol.

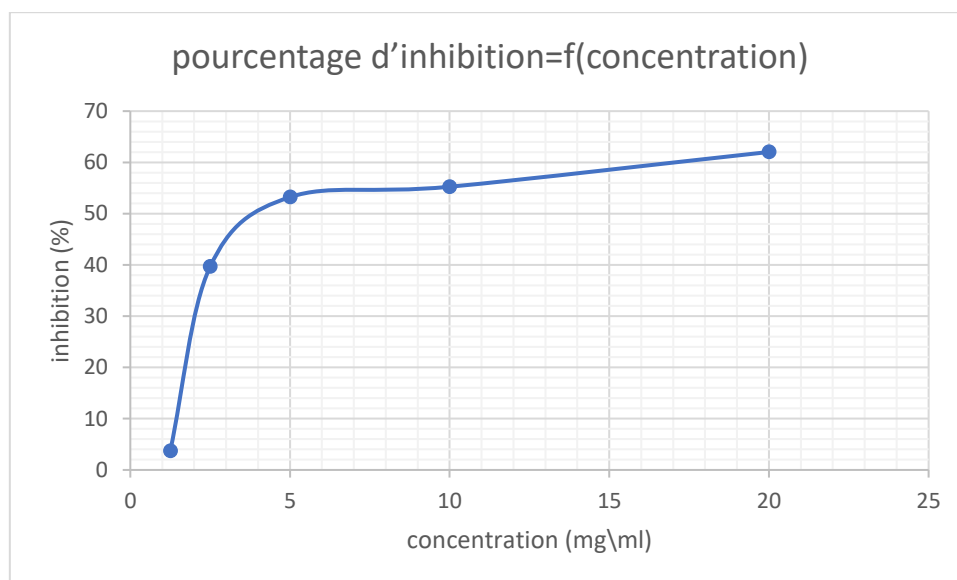
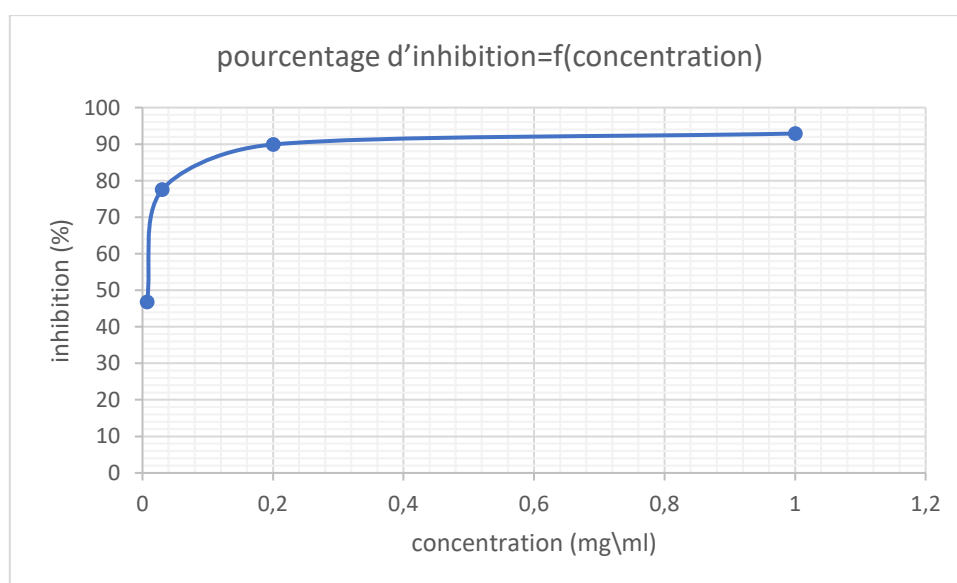


Figure 22 : pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine en fonction de différentes concentrations du diclofénac.



D'après les résultats obtenus pour le test de l'activité antiinflammatoire de l'HE et de l'extrait sec brut d'*A. citrodora*, on remarque que l'inhibition augmente considérablement avec l'augmentation de la concentration des échantillons. L'huile essentielle présente une activité antiinflammatoire à des concentration élevés (200 mg\ml), elle montre une inhibition significative de la dénaturation de l'albumine (90,5%).

L'extrait brut montre une inhibition de 95,6% à une concentration de 20 mg/ml, par apport à l'extrait solubilisé dans l'éthanol qui illustre une inhibition moindre (62,3%) à la même concentration. Cela indique que la solubilité des composés dans le milieu réactionnel pourrait influencer les résultats.

Le diclofénac semble être le plus puissant inhibiteur de la dénaturation de l'albumine, car il atteint des pourcentages d'inhibition élevés (89,9% et 92,9%) à des concentrations plus faibles (0,2 et 1 mg/ml respectivement) que l'huile essentielle et l'extrait.

3.4. L'évaluation de l'activité antimicrobienne

• Activité antibactérienne et synergie

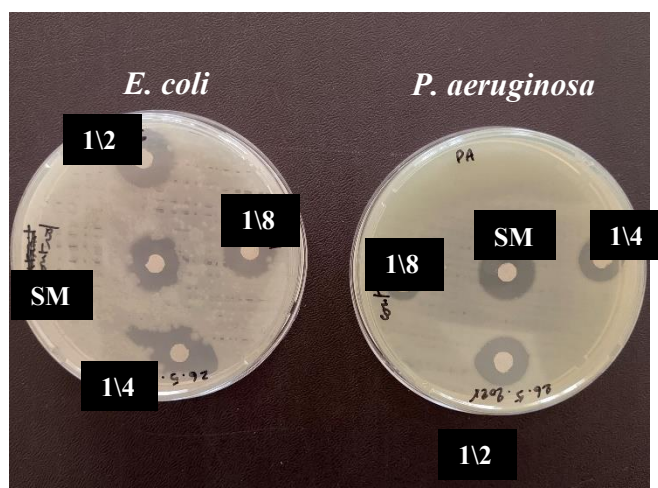
L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait sec brut d'*A. citrodora*, a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque. Pour ce faire, nous avons mesuré le diamètre des zones d'inhibition formé autour des disques contenant l'extrait brut et l'huile essentielle, face à deux souches bactérienne « *E. coli* et *P. aeruginosa* ». La mesure de ses zones d'inhibition a permis d'estimer la résistance ou la sensibilité de chaque souche aux échantillons testés. Les résultats sont illustrés dans les tableaux suivants :

Contrôle positif : la Gentamicine

Tableau 14 : effet antibactérien de la Gentamicine sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*

Concentration mg/ml	1/8	1/4	1/2	SM
<i>E. coli</i>	11 mm	14 mm	15 mm	17 mm
<i>P. aeruginosa</i>	15 mm	15 mm	17 mm	19 mm

Figure 23 : effet antibactérien de la Gentamicine sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*



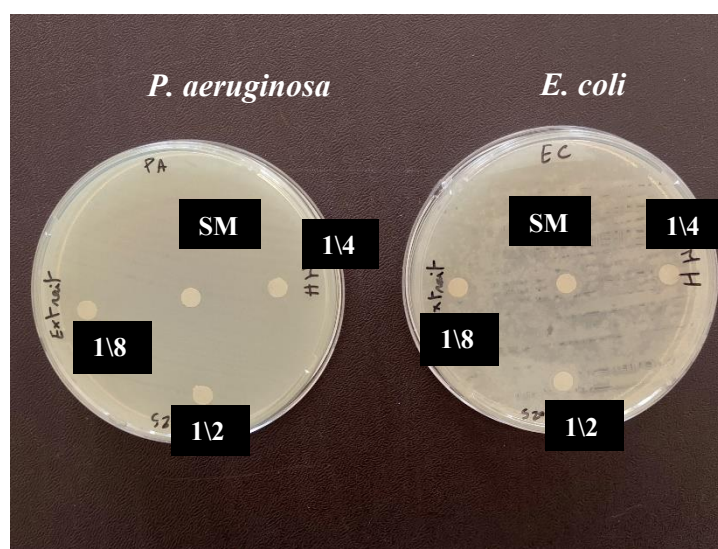
Pour la gentamicine on remarque que la plus grande zone d'inhibition pour les deux souches bactériennes est celle de la solution mère. Tandis que la plus faible concentration (1\8) provoque une petite zone d'inhibition pour chaque souche bactérienne.

Extrait brut

Tableau 15 : effet antibactérien de l'extrait d'*A. citrodora* sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*

Concentration mg\ml	1\8	1\4	1\2	SM
<i>E. coli</i>	6mm	6mm	6mm	6mm
<i>P. aeruginosa</i>	6mm	6mm	6mm	6mm

Figure 24 : effet antibactérien de l'extrait d'*A. citrodora* sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*



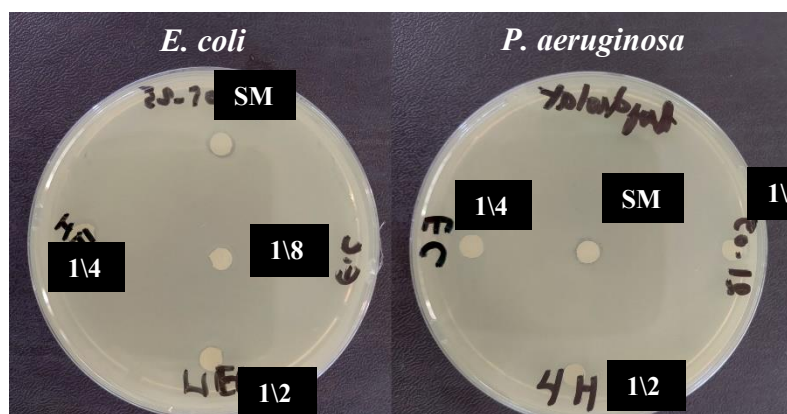
Dans l'*E. coli* on remarque qu'il n'y a aucune apparition d'une zone d'inhibition pour toutes les concentrations d'extrait aqueux d'*A. citrodora* pour les deux souches testées.

Hydrolat :

Tableau 16 : effet antibactérien de l'hydrolat d'*A. citrodora* sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*

Concentration mg\ml	1\8	1\4	1\2	SM
<i>E. coli</i>	6mm	6mm	6mm	8mm
<i>P. aeruginosa</i>	6mm	6mm	6mm	8mm

Figure 25 : effet antibactérien de l'hydrolat d'*A. citrodora* sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*



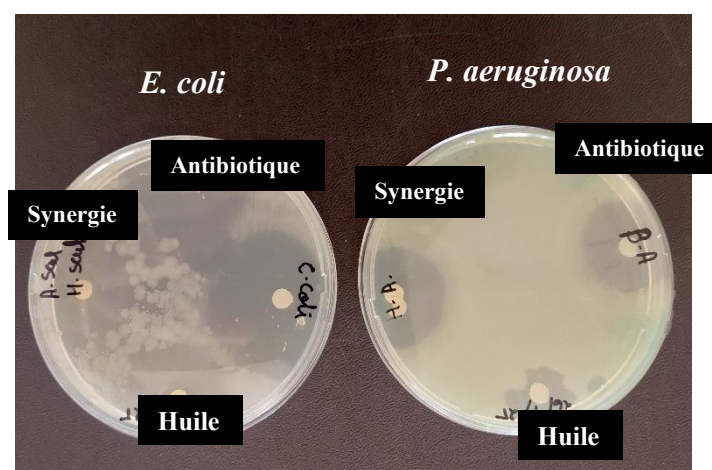
L'hydrolat d'*A. citrodora* a provoqué une petite zone d'inhibition des deux souches bactériennes par la solution mère, tandis que pour les autres concentrations il n'y a aucune inhibition de la croissance bactérienne.

La synergie d'huile essentielle avec l'antibiotique :

Tableau 17 : effet synergique de l'huile essentielle d'*A. citrodora* avec la Gentamicine sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*.

	Huile pure	Antibiotique	Synergie
<i>E. coli</i>	30 mm	35 mm	40 mm
<i>P. aeruginosa</i>	20 mm	27 mm	30 mm

Figure 26 : effet synergique de l'huile essentielle d'*A. citrodora* avec la Gentamicine sur les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa*.



L'huile essentielle d'*A. citrodora* a montré une grande zone d'inhibition pour l'*E. coli* par rapport à l'antibiotique. Par contre pour la *P. aeruginosa* on remarque une zone moindre que celle de l'*E. coli*.

L'effet synergique de l'huile essentielle avec l'antibiotique a présenté des grandes zones d'inhibition pour les deux souches bactériennes, où l'inhibition de l'*E. coli* est de 40mm, et celle de la *P. aeruginosa* elle est de 30mm.

Chapitre 3

Discussion

1. Rendements de l'extrait et de l'huile essentielle

Plusieurs facteurs peuvent influencer le rendement en extrait ou en huile essentielle lors de l'hydrodistillation, notamment la région de la récolte, la partie utilisée, la qualité de la plante, méthode de séchage et le temps d'extraction. En comprenant et en optimisant ces facteurs, il est possible d'améliorer significativement le rendement et la qualité de l'huile essentielle obtenue et même de l'extrait.

2. Analyses phytochimiques qualitatives

Le test des flavonoïdes se distingue par une élimination réductrice, au lieu d'une réduction complète en composé méthylène, l'intermédiaire hydroxylé se stabilise en anthocyanidine grâce à une conjugaison étendue. Les flavones se caractérisent par une couleur jaune due à cette conjugaison, entraînant un déplacement de la couleur vers l'orange. Ce changement de couleur marqué rend le test facile à interpréter visuellement pour détecter les flavonoïdes. [22]

Les tannins sont des polyphénols présents dans l'*A. citrodora*, et lorsqu'on ajoute le FeCl_3 ou le chlorure de fer à l'extrait végétal, les ions Fe^{3+} réagissent avec les groupements hydroxyles (OH) des tannins, cette interaction forme des complexes colorés. Ces derniers peuvent entraîner un changement de couleur de la solution du jaune au bleu verdâtre, selon la concentration et le type des tannins présents. Le test est assez sensible, ce qui signifie qu'il peut détecter même de faibles concentrations de tannins dans l'extrait végétal. [23]

Dans le test de Wagner qui contient l'iode et l'iodure de potassium, certains types d'alcaloïdes réagissent avec l'iode pour former un complexe coloré. La réaction conduit à la formation d'un précipité brunâtre, ce qui indique la présence des alcaloïdes même en faibles quantités. [24]

Les saponines sont des composés qui possèdent une structure amphiphile (généralement une chaîne osidique) et une partie hydrophobe (aglycone stéroïde ou tritpénoïdes). Cette dualité structurale leur confère des propriétés tensioactives, similaires à celles des savons. Quand une solution contenant des saponines est agitée vigoureusement, les molécules de saponine s'orientent à l'interface air-eau, réduisant la tension superficielle et permettant la formation de bulles d'air stables qui se transforment en mousse persistante. [25]

3. Evaluation des activités biologiques

3.1. Activité antioxydante

Les antioxydants naturels sont actuellement au cœur de nombreuses recherches. Au-delà de leur rôle évident dans la conservation alimentaire, ils pourraient jouer un rôle important dans la prévention et le traitement des maladies liées au stress oxydatif (Kouamé J. 2009). De nombreuses études sur l'activité antiradicalaire

des extraits de plantes ont déjà démontré que les composés phénoliques, et plus particulièrement les flavonoïdes, sont reconnus comme de puissants antioxydants, ils sont capables de piéger les radicaux libres et les formes réactives de l'oxygène. (Mansouri A, 2005)

Il est probable que l'activité antioxydante observée dans l'huile essentielle d'*A. citrodora* qui a été testée, soit principalement attribuable à ses composants majoritaires, les monoterpènes, lesquels sont connus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes (Hammoudi R et al., 2015). De manière générale, on constate que les huiles essentielles dotée d'une forte concentration en composés oxygénés possèdent une activité antiradicalaire supérieure à celles dominées par des terpènes hydrocarbonés (Miladi et al., 2013). Par ailleurs, Athamena et al. (2010) ont souligné que les valeurs d'activité antioxydante peuvent différer significativement selon la méthode d'analyse utilisée.

3.1. Activité antiinflammatoire

Cette étude a systématiquement évalué l'effet anti-inflammatoire de l'huile essentielle et de l'extrait sec brut d'*Aloysia citrodora* en utilisant le modèle d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine bovine, avec le diclofénac sodique comme témoin positif. Les résultats ont révélé plusieurs aspects clés :

Cette étude a évalué le potentiel anti-inflammatoire de l'huile essentielle et de l'extrait sec brut d'*Aloysia citrodora* à travers leur capacité à inhiber la dénaturation thermique de l'albumine bovine, avec le diclofénac sodique comme référence. Les résultats révèlent une activité dose-dépendante marquée pour les deux extraits, l'huile essentielle atteignant 90,5% d'inhibition à 200 mg/ml, performance attribuable à sa richesse en monoterpènes bioactifs (cital, limonène, géraniol) connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires (Boukhatem et al., 2020 ; Sharifi-Rad et al., 2021). Une différence notable est apparue entre les extraits aqueux et éthanoliques, le premier montrant une inhibition supérieure (95,6% à 20 mg/ml) contre 62,3% pour le second, suggérant une meilleure solubilité et biodisponibilité des principes actifs hydrophiles, probablement des polyphénols et flavonoïdes (Mazzio et al., 2018). Bien que le diclofénac ait confirmé sa puissance avec 89,9-92,9% d'inhibition à des concentrations bien plus faibles (0,2-1 mg/ml), les performances des extraits naturels, particulièrement l'extrait aqueux, sont prometteuses. Le mécanisme d'action impliquerait la stabilisation des protéines et l'inhibition des processus oxydatifs, les composés phénoliques de la verveine citronnée protégeant probablement les membranes lysosomales et limitant la libération d'enzymes pro-inflammatoires (Middleton et al., 2000 ; González-Trujano et al., 2018). Ces résultats corroborent les études antérieures sur les propriétés anti-inflammatoires des extraits végétaux et ouvrent des perspectives intéressantes pour le développement d'alternatives naturelles aux AINS classiques, bien que des études complémentaires soient nécessaires pour préciser les mécanismes moléculaires et évaluer l'efficacité in vivo.

3.2. Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits de verveine citronnée (*Aloysia citrodora*) a révélé des variations significatives d'efficacité contre *E. coli* et *P. aeruginosa*. Les tests d'inhibition ont montré une absence totale d'activité pour l'extrait aqueux et l'hydrolat (6 mm de diamètre d'inhibition), tandis que l'huile essentielle a démontré une activité remarquable (25-30 mm), approchant celle de la gentamicine utilisée comme contrôle positif (27-40 mm) (Argyropoulou et al., 2010 ; Boukhatem et al., 2014). Plusieurs hypothèses expliquent cette disparité : la pauvreté en principes actifs des extraits hydrosolubles, contenant principalement des flavonoïdes et tanins peu antimicrobiens (Benhaddou et al., 2020) ; la possible dénaturation thermique des composés lors de l'extraction (Slimani et al., 2021) ; et la faible perméabilité membranaire des molécules polaires (Bakkali et al., 2008). À l'opposé, l'efficacité de l'huile essentielle, riche en citral (70-85%), repose sur sa capacité à altérer les membranes bactériennes, induisant des fuites ioniques et un déséquilibre métabolique (Trombetta et al., 2005 ; Boukhatem et al., 2023). Bien que la gentamicine, par son action spécifique sur la synthèse protéique, conserve une légère supériorité, l'huile essentielle offre des atouts majeurs : spectre élargi aux Gram⁺ et Gram⁻ (Martínez et al., 2022), faible risque de résistance dû à son mécanisme polyvalent (Bassolé & Juliani, 2012), et excellente biocompatibilité (Russo et al., 2022). Ces données positionnent l'huile essentielle comme candidat sérieux pour des applications en antisepsie cutanée ou conservation alimentaire, bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour optimiser les protocoles d'extraction et confirmer son efficacité *in vivo* (Lang & Buchbauer, 2012 ; Nazzaro et al., 2013).

3.3. Évaluation de l'effet synergique entre une huile essentielle et un antibiotique sur *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*

L'huile essentielle de verveine citronnée a démontré une activité antibactérienne différenciée selon les souches testées. Contre *Escherichia coli*, des zones d'inhibition nettes ont été observées, indiquant une bonne sensibilité à l'huile essentielle, probablement due à la présence de monoterpènes tels que le citral, capables de perturber l'intégrité des membranes bactériennes par leur action lipophile (Trombetta et al., 2005 ; Boukhatem et al., 2023). En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* s'est révélée beaucoup plus résistante, avec des halos d'inhibition très réduits. Cette tolérance s'explique par plusieurs mécanismes de défense bien documentés : (i) la présence d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides (LPS) qui limite la pénétration des composés hydrophobes (Nikaido, 2003) ; (ii) l'expression de pompes d'efflux multi-spécifiques telles que

le système MexAB-OprM, qui expulsent activement les substances antimicrobiennes (Poole, 2011) ; et (iii) la production accrue d'alginate, un polysaccharide extracellulaire formant une matrice protectrice qui limite l'accès des agents externes aux cellules bactériennes (Franklin et al., 2011).

L'antibiotique de référence, la gentamicine, s'est montré efficace contre *E. coli*, mais son effet a été plus modéré sur *P. aeruginosa*, soulignant la résistance intrinsèque de cette dernière. Le test de synergie entre l'huile essentielle et la gentamicine a révélé une augmentation significative de l'activité antimicrobienne sur les deux souches, en particulier sur *E. coli*, avec une extension notable de la zone d'inhibition par rapport à chaque agent testé séparément. Cet effet synergique peut s'expliquer par une augmentation de la perméabilité membranaire induite par l'huile essentielle, facilitant ainsi la pénétration de l'antibiotique, ou par une inhibition partielle des mécanismes de résistance bactérienne (Bassolé & Juliani, 2012 ; Russo et al., 2022).

Ces résultats confirment les observations de la littérature selon lesquelles les huiles essentielles, grâce à leur mode d'action multi-cibles, peuvent jouer un rôle d'adjuvant en potentialisant l'effet des antibiotiques conventionnels (Lang & Buchbauer, 2012 ; Nazzaro et al., 2013). Une telle approche combinée représente une stratégie prometteuse pour améliorer l'efficacité thérapeutique, notamment contre les souches multirésistantes telles que *P. aeruginosa*.

Conclusion

L'*Aloysia citrodora* plus connue sous le nom de verveine citronnée, est une plante médicinale largement reconnue et utilisée depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle.

Nous avons effectué une extraction sous reflux de la partie aérienne d'*A. citrodora*, et une extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation, en utilisant un solvant aqueux pour les deux extractions. Le rendement de l'extrait sec brut a été de 5,97%, et pour le rendement en huile essentielle a été de 0,412 %.

L'analyse phytochimique de la plante d'*A. citrodora* a permis d'identifier plusieurs composés actifs. Nous avons ainsi détecté la présence des flavonoïdes, des tannins, des alcaloïdes, et des traces de saponines.

Pour l'évaluation des activités biologiques effectuées, l'*A. citrodora* a montré une bonne activité antioxydante par les deux méthodes, FRAP et DPPH, où les valeurs d'IC₅₀ ont été de 1mg/ml et 1,65mg/ml pour l'extrait et l'huile essentielle respectivement.

Les résultats d'évaluation de l'activité antiinflammatoire *in vitro* testé par la méthode d'inhibition de la dénaturation de l'albumine, ont montrés que l'extrait et l'huile essentielle d'*A. citrodora* réduisent la dénaturation de la protéine mais à des concentrations élevées.

L'étude de l'activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion sur disque contre les deux souches bactériennes relativement résistantes, illustre que l'huile essentielle est efficace contre l'*E. coli* et *P. aeruginosa*, alors qu'il n'a pas montré d'activité pour l'extrait aqueux.

De plus, l'association de l'huile essentielle avec un antibiotique (gentamicine) a montré un effet synergique prometteur, notamment contre *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle d'*Aloysia citrodora* pourrait être utilisée comme adjuvant naturel dans des thérapies antimicrobiennes alternatives. Des études complémentaires, notamment *in vivo*, sont toutefois nécessaires pour confirmer ces observations et évaluer leur potentiel clinique.

Ce travail vise à démontrer qu'*A. citrodora* est une plante très importante et intéressante pour des objectifs et des recherches futures.

Références

- Abuhamdah R., Mohammed A.** (2013). *Chemical, molecular pharmacology and neuroprotective of the essential oil derived from Aloysia citrodora Palau*. Durham university.
- Athamena S., Chlghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S., Khebri S.** (2010) *activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Cuminum cyminum L.* lebanese science journal, 11(1) : 69-81.
- Argyropoulou, C., Daferera, D., Tarantilis, P. A., Fasseas, C., & Polissiou, M.** (2010). *Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of Aloysia citrodora Palau from Greece. Journal of Essential Oil Research*, *22*(6), 520–523.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., & Idaomar M.** (2008). *Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Baser K. H. C., & Buchbauer G.** (2016). *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications* (2nd ed.). CRC Press.
- Benhmed K., & Djellouli Y.** (2020). *Adaptation d'Aloysia citrodora aux conditions des Hauts Plateaux algériens*. Revue des BioRessources, 10(1), 45–53.
- Benzi V., et al.** (2022). Flore aromatique de la région de Maghnia. Rapport CNEPRU, Université de Tlemcen.
- Bekhechi, C., Abdelouahid D.** (2010). *Les huiles essentielles*. Office des publications universitaires.
- Belfar C.** (2018). *Impact d'huile essentielle de Lippia citriodora sur la morphométrie chez une espèce de moustique Culex pipiens*. Univesrsité de Laarabi Tebbessi, Tébessa.
- Belhamra M., & Babahani, S.** (2022). *Exigences pédoclimatiques des plantes aromatiques méditerranéennes*. Revue des Zones Arides, 15(2), 78–92
- Belkamel A., Bammi J., Janneot V., Belkamel A., Dehbi Y., & Douira A.** (2018). *Contribution to the study of the chemical composition of Lemon Verbena: Aloysia triphylla (Hert). Britt. cultivated in Morocco*. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology, 3(2).
- Bennour H., Merzouk M., Rezaiki I.** (2022). *Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques extraits d'une plante médicinale (Aloysia citrodora L.)*. Centre universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila.
- Benzahi K.** (2001). *Contribution à l'étude des flavonoides dans la Plante cynodn DactylonL (chindent)*, mémoire de Magister. Université d'Ouargla, 15-17p.

- Bouderbala R., & Ainmar A-A.** (2023). *Etude de la fragilité membranaire des érythrocytes pa la cytométrie en flux*. Mémoire, université de Constantine.
- Boukhatem M., Hamaidi N., M. S., Saidi F., & Hakim Y.** (2010). *Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie)*. Nature & Technology, (3), 37.
- Boukhatem M. N., Ferhat M. A., Kameli A., Saidi F., & Kebir H. T.** (2014). *Aloysia citrodora Palau (Lemon verbena): A review of phytochemistry and pharmacology. Journal of Essential Oil Research*, 26(5), 331–347. <https://doi.org/10.1080/10412905.2014.882283>
- Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Talbaoui A., Khouchlaa A., Charifi s., & Dakka N.** (2017). *Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries*. Phytothérapie ; 16(S1), 173-183.
- Bonjean A.**, (2001). « Aloysia triphylla-Verveine odorante (Verbenaceae), systématique et répartition géographique, combinaison spécifique, morphologie, histoire, culture et récolte.
- Borgi W., M. C. Recio J. L. Ríos & N. Chouchane** (2008). *Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from Ziziphus lotus (L.) Lam.* South African Journal of Botany 74(2): 320-324.
- Bradai L., Bissati S., & Bouallala M. H.** (2021). *Cultivation of medicinal plants in Saharan Algeria: Challenges and opportunities*. Journal of Arid Environments, 184, 104312. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104312>
- Bravo L., & Mulet A.** (2020). Composition chimique des huiles essentielles. Dans *Phytothérapie moderne* (pp. 145-178). Springer.
- Burnichon, N., Texier A.** (2003). L'antibiogramme : la détermination de la sensibilité aux antibiotiques. DES bactériologie
- Camille D.** (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire*, Céline Poiteaux, Lavoisier, Paris, France.
- Campbell G.L.** (2017). *OMS veut de nouveaux antibiotiques. Pharmacovigilance*, OMS ; 14,5.
- Chabier J-Y.** (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie*, sciences pharmaceutiques.
- Chaouch N.** (2001). Etude des Alcaloïdes dans la coloquinte colocynthis vulgaris LSchrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya d'Ouargla). Mémoire de magister.Université d'Ouargla, p 44.
- Collins., Lync.** (1976). Microbiological methods. 4th edition, 234-247

- Cruz D., Falé P. L., Mourato A., Vaz P. D., Serralheiro M. L., & Lino A. R. L.** (2010). Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena). *Colloids and Surfaces Biointerfaces*, 81(1), 67-73.
- Da Silva F.** (2010). Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL. Thèse de Doctorat, Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy p1, p6 ; p26 ; p29 ; p45.
- Dahia M., Benabdelkader T., & Zellagui A.** (2009). *Constituents of the polar extracts from Algerian Pituranthos scoparius*. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(6), 919-920. <https://doi.org/10.1007/s10600-010-9471-2>
- Denis S.** (2015). *Pharmacie et surveillance infirmière*, Lamarre, Paris, France.
- Direction des Services Agricoles (DSA) de Tlemcen. (2021). Inventaire des plantes aromatiques à Nedroma.
- EMA.** (2009). Monographie *Salvia officinalis*. EMA/HMPC/731886/2009.
- Fernandez X., & Cabrol-Bass D.** (2007). *Les terpènes dans les huiles essentielles : Structure, propriétés et applications*. Dans *Chimie des huiles essentielles : De la molécule à l'application* (p. 45-78). Éditions Tec & Doc.
- Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzeby J., Tindall B.J.** (2007). *La résistance aux antibiotiques*, Pistes, Paris, France.
- Direction des Services Agricoles (DSA). (2021). *Rapport annuel sur les cultures aromatiques dans les wilayas côtières*. Ministère de l'Agriculture Algérien.
- Gazengel J-M., & Orecchioni A-M.** (1999). *Le préparateur en pharmacie, guide théorique et pratique*, Tec&Doc, Paris, France.
- Gheddab N.** (2016). *Inhibition de la cyclooxygénase par les flavonoïdes – Etude bibliographique*. Mémoire, université de Constantine.
- Ghédira k., & Goetz p.** (2017). *Verveine odorante, Aloysia citrodora Palau (Lippia citrodora)*, phytothérapie ; 15(1) 33-37.
- Girre L.** (2006). *Connaître et reconnaître les plantes médicinales*. Ouest-France.
- Gudrun., & Germann P.** (2014). *Plantes d'aromathérapie*, Delachaux et Niestlé, paris, France.
- Food and Agriculture Organization (FAO).** (2018). Climate-smart agriculture case studies: North Africa. <http://www.fao.org/climate-smart-agriculture>
- Hammoudi R., Dehak K., Hadj M., & Didi Ouldelhadj M.** (2015). *Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de Deverra scoparia*. *Coss. & Dur. (Apiacea)*. *Lebanese science journal*. 16(2) : 27-36.

Harborne J.B & Swain.T., (1969). Perspectives In Phytochemistry, Academic Press, London, New York.

Hasan M.R., Asma I.M., Fatma U.A., & Wamidh H.T. (2022). *Antioxidant and antiproliferation activities of lemon verbena (Aloysia citrodora): an in vitro and in vivo study*; 11(6),785.

Hellal A. (2011). *Valorisation des plantes médicinales par l'extraction des huiles essentielles et l'étude de leurs activités biologiques* [Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine]. HAL Open Science. <https://theses.hal.science/tel-00688631/document>

INRAA Tlemcen. (2020). Rapport sur les cultures aromatiques à Remchi (Projet ITMAS).

Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA). (2019). *Guide technique : Culture des plantes aromatiques en zones semi-arides* (Rapport No. 12-2019). INRAA Editions.

Institut Technique des Cultures Industrielles (ITCI). (2022). Projet pilote de serres aromatiques à Biskra (Rapport d'activité).

ISO. (2002). ISO 3515:2002 – Lavande vraie (*Lavandula angustifolia*).

John C., & Buhraman, *Lester Frank Ward in American thought*, Washington, America.

Kalla A., (2012). Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*. Thèse doctorat. Université Mentouri - Constantine.

Koamé J., Gnoula C., Palé E., Bassoulé H., Guissoui P.I., Simporé J., & Nikiéma J.B. (2009). *Sci et Tech.*, 32 ; 9-23.

Loïc G. (2006). *Les plantes et les médicaments*, Delachaux et Niestlé, Paris, Paris, France.

Luciano P., & Liébart J-C., (2015). *Microbiologie*, Dunod, Paris, France.

Mansouri A., Ennbarek G., Kokkalou E., & Kefalas J. (2005). *Food chem.*, 89 ; 411-559.

Miladi H., Ben Salma R., Mili D., Zouari S., Bakhrouf A., & Ammar E. (2013) *chemical composition and cytotoxic and antioxidant activities of Satureja montana L. essential oil ant its antibacterial potential against Salmonella Spp. Strains. J. chem.*, 2013: 9-18.

Moulin M., & Coquerel A. (2002). *Pharmacologie, connaissances et pratique*, Masson, Paris, France.

- Okoli C. O. & P. A. Akah** (2004). *Mechanisms of the anti-inflammatory activity of the leaf extracts of Culcasia scandens P. Beauv (Araceae)*. Pharmacology Biochemistry and Behavior 79(3): 473-481
- Ouis N.** (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil. Diss. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger.
- Pascual M., Slowing K., Carretero E., Mata D.S., & Villar A.** (2001). *Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review*. Journal of ethnopharmacology; 76(3): 201-214.
- Pastorelli G., Rossi R., & Corino C.** (2012). Influence of Lippia citriodora verbascoside on growth performance, antioxidant status, and serum immunoglobulins content in piglets. Czech Journal of Animal Science, 57(7), 312-322.
- Paul S.** (2005). *Bactériologie, pour la médecine, la biologie, et les biotechnologies, 6eme édition*, Dunod, Paris, France.
- Prescrire.** (2007). *Bien utiliser les plantes en situation de soins*, numéro spécial été, T.27. N°286.
- Rabhallah C., & Aouachria C.** (2020). *Etude de l'huile essentielle de Lippia citriodora et leur bioactivité sur l'espèce de moustique Culex pipiens*. Université de Laarabi Tebessi, Tébessa.
- Ravo L., Mulet, A., & García-Sánchez, P.** (2020). Essential oils as natural preservatives: Antimicrobial mechanisms and food applications. *Food Chemistry*, *325*, 126850.
- Roodabeh B., Pourouchista R., Shahpiri Z., André M.M., Rahimi R., & Farzai M.H.** (2018). *Aloysia citrodora Palau (lemon verbena) : A review of phytochemistry and pharmacology*, journal de ethnopharmacology, Elsevier Masson, France ; 222 :34-51.
- Salle J.L. & Pelletier J.** (1991) - *Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie*. Ed. Frison-Roche, p 19-45.
- Sene M., et al.** (2024). *L'effet antiinflammatoire d'un extrait de Ceiba pentandra sur l'oedeme aigu de la patte de rat induit par la carraghénine*. Dakar Médical (Bulletin de la société médicale d'Afrique noire de langue française, 68(2)
- Skaltsa H., & Shammass, G.** (1988). Flavonoids from Lippia citriodora. Planta Medica, 54(05), 465-465.
- Slimani N., & Dahmane M.** (2013). *Effet des huiles essentielles extraire à partir des feuilles de Mentha spicata, Mentha pulegium, Eucalyptus camaldulensis,*

Lippia citrodora, *Ocimum basilicum* sur quelques bactéries pathogènes, thèse de master, université de Hassiba Ben Bouali – Chlef, Algérie.

Slimani N., Echahdoune H., El Amraoui, M., & El Amraoui, A. (2013). Étude phytochimique et activité antioxydante des extraits d'*Aloysia citrodora* du Maroc. *Phytothérapie*, 11 (4), 213-219.

Soualeh N., & Soulimani R. (2016). Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts *Phytothérapie* 14, (1), 44–57.

Sriaandhal Sabalingam et al. (2025). In-vitro approaches to evaluate the anti-inflammatory potential of phytochemicals, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 15(1), 187-192.

Tadros S. H., (1979). Pharmacognostical study of *entolobuimcyclocarpumgriseb* growing in Egypt. Ph. D. thesis. Faculty of pharmacy. Cairouniversity. Florida state horticultural society, p426.

Tisserand R., & Young R. (2014). *Essential Oil Safety* (2nd ed.). Churchill Livingstone.

Valnet J. (1984) - *Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes*. Maloine S.A. éditeur. Paris p455.

Vasconcelos, N. G. J. Croda and S. Simionatto (2018). *Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review.* "Microbial Pathogenesis 120: 198-203.

Williams L;O'connar A; latore L; Dennis O;Ringer S.(2008). ANTI-inflammatory. *West indian Med j* ; 57:327-331.

Zermane R., Setiha S., & Souilah F. (2021). *Les huiles essentielles*. Université Constantine 3 Salah Boubnider, Faculté de médecine.

Références des sites web :

[1]. [Éliminer les infections sans antibiotiques- Plantes et Santé](#)

[2]. <https://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/synergism.html>

[3].<https://shs.cairn.info/dictionnaire-collectivites-territoriales-et-develo--9782743022358-page-457?lang=fr>

[4].<https://shs.cairn.info/dictionnaire-collectivites-territoriales-et-develo--9782743022358-page-457?lang=fr>

[5]. [aromatogramme](#)

[6]. European Pharmacopoeia, 11^e édition, 2023

[7]. ISO 3528:2012 – Huiles essentielles de mandarine (*Citrus reticulata* Blanco)

-
-
- [8]. Tisserand, R., & Young, R. (2014). *Essential Oil Safety* (2nd ed.). Churchill Livingstone.
- [9]. AFNOR NF T75-318 – Huiles essentielles de Laurier noble (*Laurus nobilis*)
- [10]. ISO 3515:2002 – Huiles essentielles de Lavande vraie (*Lavandula angustifolia*)
- [11]. Franchomme, P., & Pénéol, D. (2001). *L'aromathérapie exactement* (4^e éd.).
- [12]. Pharmacopée Européenne 01/2008:0400 – *Mentha x piperita* (Menthe poivrée)
- [13]. Lawrence, B.M. (2007). *Essential Oils: Vol. I – History, Production, Composition & Applications* (via GC/MS).
- [14]. ISO 855:2003 – Huiles essentielles de Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*)
- [15]. ISO 3214:1998 – Huiles essentielles de Cannelle écorce (*Cinnamomum zeylanicum*)
- [16]. EMA/HMPC/731886/2009 – European Medicines Agency: Monographie sur la Sauge officinale (*Salvia officinalis*)
- [17]. Wichtl, M. (2004). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals* (3rd ed.). CRC Press.
- [18]. Pharmacopée Française, 10^e édition – Origan (*Origanum compactum*)
- [19]. ISO 3045:2004 – Huiles essentielles de Clary Sage (*Salvia sclarea*)
- [20]. ISO 4731:2017 – Huiles essentielles de Géranium Bourbon (*Pelargonium graveolens*)
- [21]. WHO (1999). *Monographs on Selected Medicinal Plants – Volume 1*, *Eucalyptus globulus*.
- [22]. <https://chemistry.stackexchange.com/question/13891/basic-chemistry-of-the-shinoda-test-for-flavonoids>
- [23]. https://www.researchgate.net/figure/The-reaction-between-tannins-and-FeCl3-Ergina-2014_fig1_359168159
- [24]. <https://chemistnotes.com/natural/alkaloids-introduction-chemical-test/>
- [25]. https://www.researchgate.net/figure/Reaction-flavonoid-in-NaOH-12_fig1_332848158
- [27]. https://www.researchgate.net/figure/Reaction-of-saponins-with-water_fig2_371032925
- [26]. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>

Annex

- DPPH

Extrait brut : Solution mère : 10 mg\ml

Concentration (mg\ml)	0,4	0,8	1,6	3	5	Contrôle
Absorbance	0,660	0,415	0,261	0,180	0,160	0,892
Inhibition (%)	26	53,47	70,73	79,82	82,06	

Huile essentielle : Solution mère : 8 mg\ml

Concentration (mg\ml)	0,25	0,5	1,5	2,5	4	Contrôle
Absorbance	0,760	0,597	0,312	0,212	0,202	0,892
Inhibition (%)	14,79	33,07	55,02	66,23	77,35	

L'acide ascorbique : Solution mère : 1 mg\ml

Concentration (mg\ml)	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	Contrôle
Absorbance	0,625	0,417	0,200	0,094	0,064	0,892
Inhibition (%)	29,93	53,25	77,37	91,03	96,97	

- FRAP

L'huile essentielle : Solution mère : 20 mg\ml

Concentration (mg\ml)	2,5	5	10	20
Absorbance	0,48	0,78	1,72	2,56

L'extrait : Solution mère : 20 mg\ml

Concentration (mg\ml)	2,5	5	10	20
Absorbance	1,04	1,73	2,66	3

L'acide ascorbique : Solution mère : 2 mg\ml

Concentration (mg\ml)	0,125	0,25	0,5	1	2
Absorbance	0,28	0,333	0,657	1,089	1,468

- **Antiinflammatoire :**

L'huile essentielle : Solution mère : 200 mg\ml

Concentration (mg\ml)	12,5	25	50	100	200	Contrôle
Absorbance	0,028	0,060	0,100	0,113	0,156	0,295
Inhibition (%)	3,05	27,79	66,1	79,66	90,5	

L'extrait brut : solubilisé dans l'eau distillée : Solution mère : 20 mg\ml

Concentration (mg\ml)	1,25	2,5	5	10	20	Contrôle
Absorbance	1,221	0,512	0,290	0,127	0,072	1,46
Inhibition (%)	16,43	64,93	86,98	91,3	95,06	

L'extrait brut : solubilisé dans l'éthanol : Solution mère : 20 mg\ml

Concentration (mg\ml)	1,25	2,5	5	10	20	Contrôle
Absorbance	0,285	0,178	0,132	0,138	0,112	0,295
Inhibition (%)	3,72	39,66	53,22	55,25	62,03	

Le diclofénac : Solution mère : 1 mg\ml

Concentration (mg\ml)	0,007	0,03	0,2	1	Contrôle
Absorbance	0,249	0,301	0,321	0,327	0,169
Inhibition (%)	46,75	77,5	89,9	92,9	