



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Aboubakr Belkaid – Tlemcen –



Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie, et sciences de la terre et de

l'univers

Département de Biologie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement
« LAMAABE »

MÉMOIRE

Présenté par

ZAOUI Chaïmae et ZEMMOUR Fatima Zahra

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master en Sciences Biologiques

Option : Microbiologie fondamentale

Thème

**Étude de l'activité antibactérienne de *Ballota hirsuta* de la région de
Nedroma-Tlemcen**

Soutenu publiquement, le 29/06/2025, devant le jury composé de :

Président	Mr Chaouche Tarike	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	Mme AYAD Amel	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	Mme Meziani Zahira	MCB	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2024-2025

Remerciements

Nous souhaitons tout d'abord exprimer notre gratitude à **Dieu**, pour la force, la patience et l'endurance qu'Il nous a accordées tout au long de ce travail. C'est grâce à Sa sagesse et à Sa bienveillance que nous avons pu mener ce projet à son terme, malgré les difficultés et les défis rencontrés.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères à **Madame Ayad Amel**, Maître de conférences au département de Biologie de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, qui a accepté de nous encadrer tout au long de ce mémoire. Sa rigueur scientifique, son engagement constant, ainsi que la qualité de ses conseils ont profondément marqué notre parcours. Mais au-delà de l'encadrante, c'est une personne d'une grande générosité intellectuelle et humaine que nous avons eu le privilège de rencontrer. Sa patience, sa disponibilité et son soutien indéfectible ont été pour nous une véritable source de motivation. Nous lui témoignons ici toute notre reconnaissance et notre respect.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **le Professeur Chaouche Tarik**, président du jury, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'évaluer ce travail, ainsi que pour ses remarques pertinentes et enrichissantes.

Mes remerciements les plus sincères vont également à **Madame Meziani Zahira**, Maître de Conférences B (MCB), pour avoir accepté de faire partie du jury en tant qu'examinatrice. Sa rigueur scientifique et ses observations constructives ont grandement contribué à la qualité de ce mémoire.

Nos remerciements vont également à **Monsieur Rebiahi Sid Ahmed**, Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen et Directeur du laboratoire de microbiologie LAMAABE, pour nous avoir accueillis chaleureusement dans son laboratoire. Grâce à lui, nous avons pu réaliser notre travail expérimental dans des conditions favorables, dans un cadre professionnel enrichissant. Sa confiance et son soutien nous ont été précieux.

Nous remercions vivement **Monsieur Habi Salim**, Ingénieur au laboratoire pédagogique de biochimie, pour son accompagnement technique, sa disponibilité et la qualité de son accueil. Son aide nous a été essentielle dans l'accomplissement de plusieurs étapes pratiques.

Nous tenons à remercier chaleureusement **Dr Baba Ali Ibrahim**, enseignant-chercheur botaniste au département d'Écologie de la faculté SNV/STU de l'Université de Tlemcen pour son aide précieuse dans l'identification botanique de la plante. Son expertise et sa disponibilité ont grandement contribué à la réussite de cette étape essentielle de notre travail

Nous exprimons également notre reconnaissance à **Monsieur Belyagoubi**, Professeur à la Faculté des Sciences de la même université, pour ses conseils pertinents, son écoute et l'intérêt qu'il a porté à notre travail. Ses remarques ont contribué à l'enrichissement de notre réflexion et à l'amélioration de ce mémoire.

Nos remerciements vont aussi à **l'ingénieure du laboratoire de microbiologie LA-MAABE**, pour son aide constante, son professionnalisme et l'accompagnement qu'elle nous a offert avec beaucoup d'attention. Sa coopération, son implication et sa bonne volonté ont été d'un grand soutien dans la réalisation de notre travail pratique.

Enfin, nous tenons à remercier l'ensemble des **enseignants du département de Biologie** pour les connaissances qu'ils nous ont transmises, leur encadrement durant notre parcours universitaire, ainsi que pour leur dévouement à former des générations d'étudiants. Leur enseignement a été le socle de notre apprentissage et de cette modeste contribution scientifique.

À toutes celles et ceux qui nous ont soutenus de près ou de loin, nous adressons nos plus sincères remerciements.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire, avec tout l'amour, la tendresse et la reconnaissance que je porte au fond de moi :

À mes parents, **Zaoui Abass** et **Medjdoub Fatiha**, Vous êtes le cœur battant de ma vie, les premiers à croire en moi. Votre amour inébranlable, vos sacrifices silencieux et vos prières constantes ont nourri chacun de mes pas. Tout ce que j'ai pu accomplir, je le dois à votre foi en moi. Ce travail est le fruit de votre amour, et il vous appartient autant qu'à moi.

À ma sœur bien-aimée **Fatima**, Ton affection, ta présence douce et tes mots réconfortants m'ont toujours apaisée. Tu es ma confidente, ma complice, mon soutien dans les moments d'incertitude.

À mes frères, **Mohamed** et **Ayoub**, Votre fierté, vos encouragements discrets mais puissants, vos regards bienveillants et protecteurs m'ont portée plus que vous ne pouvez l'imaginer.

Merci d'avoir toujours été là, silencieux mais si essentiels.

À toute ma famille, chaque mot d'encouragement, chaque sourire, chaque geste de tendresse m'a donné la force d'avancer. Merci d'avoir été le refuge de mon cœur et de mon esprit.

À ma binôme **Zemmour Fatima Zahra**, merci pour ta fidélité, ta rigueur et ta présence apaisante. Travailler à tes côtés a été une expérience à la fois humaine et enrichissante. Ce mémoire est l'aboutissement d'un vrai travail d'équipe, porté par l'écoute, le respect et l'amitié.

À mes précieuses amies : **Imen, Ahlam, Ashwak, Manel, Ikram, Zineb et Wissem**, vous avez coloré mon parcours de joie, de solidarité et de chaleur. Merci pour votre présence lumineuse, vos rires partagés, votre soutien sans faille et votre confiance.

Enfin, un immense merci à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à ce travail. Vos gestes, vos mots et votre soutien resteront à jamais gravés dans ma mémoire.

ZAOUI CHAIMAE

Dédicaces

C'est avec un cœur rempli de gratitude, d'amour et d'émotion que je dédie ce travail :

À mes parents, **Zemmour Khadir** et **Setilla Halima**, vous êtes mon repère, mon refuge, mes plus grands soutiens. Par vos sacrifices, vos conseils, votre tendresse infinie et vos prières silencieuses, vous avez bâti les fondations de ma réussite. Ce mémoire est votre victoire autant que la mienne.

À mes sœurs adorées, **Nabila** et **Anissa**, vos mots réconfortants, vos encouragements constants et votre bienveillance m'ont accompagnée à chaque étape. Vous êtes mes alliées de toujours, mes exemples de force et de douceur.

À mes frères, **Younes** et **Ayeman**, vous êtes mes piliers silencieux, mes protecteurs de l'ombre. Merci pour votre présence rassurante, vos attentions discrètes mais précieuses, et cette fierté que je lis dans vos yeux et qui me pousse à aller plus loin.

À toute ma famille, merci pour l'amour que vous m'avez toujours offert, pour vos prières, vos encouragements, et cette chaleur humaine qui m'a portée dans les moments les plus durs. À ma binôme et amie **Zaoui Chaimae**, merci pour ta confiance, ton sérieux, ta générosité et ta constance. Ce chemin parcouru à deux est l'image d'une belle complicité faite de respect mutuel, d'effort partagé et d'une réelle amitié. Ce mémoire n'aurait pas eu la même saveur sans toi.

À mes amies fidèles : **Imen, Ahlam, Manel, Achouak, Ikram, Zineb et Wissem**, merci pour votre joie communicative, vos sourires réconfortants, votre patience et votre solidarité dans les moments de fatigue. Vous avez transformé les difficultés en souvenirs inoubliables.

Enfin, nos remerciements les plus sincères à toutes celles et ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Votre aide, votre écoute et vos encouragements ont été précieux et inoubliables.

ZEMMOUR FATIMA ZAHRA

الملخص

يهدف هذا البحث إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات نبتة (*Ballota hirsuta*) من الفصيلة الشفوية، وهي نبتة تستخدم في الطب التقليدي؛ وتعرف محليا باسم "المروقيت"، ضد عازلات بكتيرية متعددة المقاومة تم الحصول عليها من المركز الاستشفائي الجامعي بتلمسان، بالإضافة إلى سلالات مرجعية. تم تحضير المستخلصات من أوراق النبتة، قبل وبعد إزالة الدهون، باستخدام مذيبات قطبية وغير قطبية. وقد أُجريت الاختبارات على سبع سلالات بكتيرية مرجعية وست سلالات سريرية متعددة المقاومة، باستخدام طريقتي الانتشار على الوسط الصلب وتحديد التركيز الأدنى المثبط. أظهرت النتائج غياب أي نشاط مضاد للبكتيريا بشكل ملحوظ في جميع المستخلصات المختبرة) مناطق التثبيط = 0 مم؛ MIC > 100 ملغ/مل، حتى عند التركيزات المتوسطة) 01، 01، 01 ملغ/مل. كما تمت مواجهة بعض القيود مع المستخلصات الدهنية بعد إزالة الدهون، التي لم تختبر بسبب قوامها الزيتي. تشير هذه النتائج إلى غياب التأثير المضاد للميكروبات في ظل الشروط التجريبية المطبقة. وتعد الدراسات الإضافية، بما في ذلك التفرقة الحيوية الموجهة وتحليل المركبات النشطة، ضرورية لتقييم الإمكانيات العلاجية لهذه النبتة بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية: *Ballota hirsuta*؛ النشاط المضاد للبكتيريا؛ البكتيريا متعددة المقاومة؛ المستخلصات المائية؛ المستخلصات العضوية؛ ندرومة، تلمسان.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the antibacterial activity of *Ballota hirsuta* (Lamiaceae) extracts, a plant used in traditional medicine and locally known as “ Meroukt” , against multidrug-resistant strains isolated from the University Hospital Center (CHU) of Tlemcen, as well as reference strains.

Extracts were prepared from the leaves, before and after delipidation, using both polar and non-polar solvents. The tests were performed on seven reference bacterial strains and six clinically isolated multidrug-resistant pathogens, using agar diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) determination methods. The results revealed no significant antibacterial activity for all tested extracts (inhibition zones = 0 mm; MIC > 100 mg/mL), even at intermediate concentrations (10, 20, 50 mg/mL). Some limitations were encountered with the post-delipidation lipid extracts, which were not tested due to their oily aspect.

These results indicate a lack of antimicrobial effect under the applied experimental conditions. Further investigations, including bio-guided fractionation and analysis of active metabolites, are needed to better assess the therapeutic potential of this species.

Keywords: *Ballota hirsuta*; antibacterial activity; multidrug-resistant bacteria; aqueous extracts; organic extracts; Nedroma , Tlemcen.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de *Ballota hirsuta* (Lamiaceae), plante utilisée en médecine traditionnelle et connue localement sous le nom vernaculaire de "Meroukt", contre des souches multirésistantes isolées du CHU de Tlemcen ainsi que des souches de référence. Des extraits ont été préparés à partir des feuilles, avant et après délipidation, à l'aide de solvants polaires et apolaires. Les tests ont été menés sur sept souches bactériennes de référence et six souches pathogènes cliniques multirésistantes, en utilisant les méthodes de diffusion sur gélose et de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Les résultats ont révélé une absence d'activité antibactérienne significative pour tous les extraits testés (zones d'inhibition = 0 mm ; CMI > 100 mg/mL), même à des concentrations intermédiaires (10, 20, 50 mg/mL).

Certaines limitations ont été rencontrées avec les extraits lipidiques post-délipidation, non testés en raison de leur aspect huileux.

Ces résultats indiquent une absence d'effet antimicrobien dans les conditions expérimentales appliquées. Des investigations complémentaires, incluant le fractionnement bio-guidé et l'analyse des métabolites actifs, sont nécessaires pour mieux évaluer le potentiel thérapeutique de cette espèce.

Mots-clés : *Ballota hirsuta* ; activité antibactérienne ; bactéries multirésistantes ; extraits aqueux ; extraits organiques ; Nedroma, Tlemcen

Table Des Matières

Liste des Abréviations	I
Liste des Tableaux	II
Liste des Figures	III
Introduction	1
Synthèse Bibliographique	3
Chapitre 1 : <i>Ballota hirsuta</i>	4
1.1. Caractéristiques du genre <i>Ballota</i>	5
1.2. Répartition géographique du genre <i>Ballota</i>	5
1.2.1. À l'échelle mondiale	5
1.2.2. En Algérie	5
1.3 <i>Ballota hirsuta</i>	6
1.3.1 Caractères botaniques de <i>Ballota hirsuta</i>	6
1.3.2 Conditions écologiques	6
1.3.3 La classification de <i>Ballota hirsuta Benth</i>	7
1.3.4 Composition chimique de <i>Ballota hirsuta</i>	7
1.3.4.1 Flavonoïdes	7
1.3.4.2 Acides phénoliques	9
1.3.4.3 Les diterpènes	10
1.3.4.4 Composés volatils de <i>Ballota hirsuta</i>	10
1.3.5 Utilisation traditionnelle de <i>Ballota hirsuta</i> en Algérie	10
1.3.6 Activités biologiques de <i>Ballota hirsuta</i>	12
1.3.6.1 Activité antimicrobienne ..	12
1.3.6.2 Activité antioxydante	12
1.3.6.3 Activité anti-inflammatoire	13
1.3.6.4 Activité insecticide et répulsive.....	13
1.3.6.5 Activité cytotoxique (anticancéreuse potentielle)	13
1.3.6.6 Activité neuroprotectrice(potentielle).....	13
1.3.7 Risques, précautions d'usage et toxicité de <i>Ballota hirsuta</i>	13
Chapitre 2 Bactéries pathogènes et résistance aux antibiotiques	15
2.1 Les bactéries pathogènes	16
2.1.1 Définition des bactéries pathogènes	16

2.1.2	Classification des bactéries pathogènes d'intérêt médical.....	16
2.1.3	Mécanismes d'infection et pouvoir pathogène	11
2.2	Résistance bactérienne aux antibiotiques	17
2.2.1	Définition et historique de la résistance	17
2.2.2	Mécanismes de résistance	18
2.2.3	Résistance naturelle et résistance acquise	18
2.2.4	Résistances croisées et multi-résistance	18
2.2.5	Bactéries pathogènes résistantes en milieu hospitalier	18
2.2.5.1	Entérobactéries multirésistantes	19
2.2.5.2	Acinetobacter baumannii multirésistant	19
2.2.5.3	Pseudomonas aeruginosa résistante aux carbapénèmes	19
2.2.5.4	Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM)	19
2.2.5.5	Enterococcus faecalis	20
2.3	Impact de la résistance bactérienne	20
2.3.1	Enjeux de santé publique	20
2.3.2	Difficultés thérapeutiques	20
2.3.3	Résistance dans les infections nosocomiales	20
2.4	Besoin de nouvelles alternatives thérapeutiques	21
2.4.1	Limites des antibiotiques conventionnels	21
2.4.2	Rôle potentiel des plantes médicinales	21
	Matériel et méthodes	22
1.	Lieu d'étude	23
2.	Matériel	23
2.1.	Matériel de laboratoire	23
2.2.	Matériel biologique	24
2.2.1.	Souches microbiennes testées	24
2.2.2.	Matériel végétal	25
2.3.	Milieux de culture utilisés	25
2.4.	Solvants utilisés	26
3.	Méthodes	26
3.1.	Préparation des extraits végétaux de <i>Ballota hirsuta</i>	26

3.1.1.	Séchage et broyage de la matière végétale	26
3.1.2.	Délipidation des extraits de <i>Ballota hirsuta</i>	26
3.1.3.	Macération	27
3.1.4.	Filtration	28
3.1.5.	Evaporation	28
3.1.6.	Récupération des extraits secs	29
3.2.	Rendements d'extraction	29
3.3.	Préparation des souches bactériennes.	30
3.3.1.	Révifcation des souches en milieu liquide	30
3.3.2.	Isolement sur milieux sélectifs et différentiels	30
3.3.3.	Vérification de la pureté des cultures	30
3.4.	Etude de l'activité antibactérienne	30
3.4.1.	La méthode de diffusion sur disque	30
3.4.1.1.	Principe de la méthode	30
3.4.1.2.	Préparation des solutions d'extrait	31
3.4.1.3.	Préparation de l'inoculum bactérien	31
3.4.1.4.	Préparation des disques d'essai	31
3.4.1.5.	Dépôt des disques	32
3.4.1.6.	Incubation et lecture	32
3.5.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	32
3.5.1.	Principe de la méthode	32
3.5.2.	Protocole expérimental	32
3.5.3.	Incubation et lecture des résultats	33
Résultats et discussion	34	
1. Résultats	35	
1.1.	Bactéries étudiées	35
1.2.	Couleur et aspect des extraits	37
1.3.	Rendement	37
1.4.	Etude de l'activité antibactérienne	38
1.4.1.	Méthode de diffusion sur disque	39
1.4.2.	La concentration minimale inhibitrice (CMI)	45
2. Discussion	48	
Conclusion	54	

Références bibliographiques.....	57
Annexes	65

Liste des Abréviations

APG	Groupe pour la phylogénie des angiospermes
ATCC	Collection américaine de cultures de type
BEA	Milieu à la bile, esculine et azide
BHI	Bouillon cœur-cerveau
CDC	Centres pour le contrôle et la prévention des maladies
CHU	Centre hospitalo-universitaire
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DDPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ESBL Bêta-lactamases à spectre étendu
EUCAST	Comité européen de l'antibiogramme
FRAP	Pouvoir antioxydant de réduction du fer
GN	Gentamicine
KPC	Carbapénémase de <i>Klebsiella pneumoniae</i>
MH	Mueller-Hinton (milieu de culture)
NDM	Métallo-bêta-lactamase de New Delhi
PBP2a	Protéine de liaison à la pénicilline 2a
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SNV	Sciences de la Nature et de la Vie
STU	Sciences de la Terre et de l'Univers
UFC	Unité formant colonie
UMC	Urgences Médicales et Chirurgicales
WHO	Organisation mondiale de la santé
XD	Bactéries à résistance étendue aux antibiotiques

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Répartition et traits morphologiques des espèces de <i>Ballota</i> en Algérie	6
Tableau 2 : Souches bactériennes de référence utilisées dans cette étude	24
Tableau 3 : Souches bactériennes cliniques utilisées dans l'étude avec leur origine.....	25
Tableau 4 : Couleur et aspect des extraits selon le solvant d'extraction utilisé.....	37
Tableau 5 : Rendements d'extraction (%) obtenus avec différents solvants avant délipidation de la plante	38
Tableau 6 : Rendements d'extraction (%) obtenus avec différents solvants après délipidation de la plante	38
Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques avant délipidation vis-à-vis des souches cliniques	40
Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques avant délipidation, vis-à-vis des souches de référence	41
Tableau 9 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques après délipidation vis-à-vis des souches cliniques.....	41
Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des extraits aqueux, éthanoliques et	43
méthanoliques après délipidation, vis-à-vis des souches de référence	43
Tableau 11 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de <i>Ballota hirsuta</i> vis-à-vis des souches de référence, avant et après délipidation	47
Tableau 12 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de <i>Ballota hirsuta</i> vis-à-vis des souches cliniques, avant et après délipidation.....	48

Liste des Figures

Figure 1 : Les structures de quelques aglycons flavonoïdes du <i>Ballota hirsuta Benth.</i>	8
Figure 2 : Structures chimiques de quelques acides phénoliques	9
Figure 3 : Hispanolone	10
Figure 4 : plaque chauffante	23
Figure 5 : une balance	24
Figure 6 : délipidation par l'utilisation du Soxhle)	27
Figure 7 : macération à froid	27
Figure 8 : filtration	28
Figure 9 : Séchage	29
Figure 10 : évaporateur rotatif	29
Figure 11: McFarland	31
Figure 12 : Cultures pures de souches bactériennes hospitalières après réactivation	35
Figure 13 : Cultures pures de souches bactériennes de référence	36
Figure 14 : Résultats des tests antibactériens des souches cliniques avec l'extrait éthanolique	43
Figure 15 : Résultats des tests antibactériens des souches cliniques avec l'extrait aqueux ..	44
Figure 16 : Résultats des tests antibactériens des souches cliniques avec l'extrait méthanolique	44
Figure 17 : Résultats des tests antibactériens des souches de référence avec l'extrait aqueux	45
Figure 18 : Résultats des CMI des extraits de <i>Ballota hirsuta</i> avant délipidation	47
Figure 19 : Résultats des CMI des extraits de <i>Ballota hirsuta</i> après délipidation	48

Introduction

L'humanité fait aujourd'hui face à un problème de santé publique majeur : la résistance croissante des micro-organismes aux agents antimicrobiens. Depuis l'introduction des antibiotiques au XXe siècle, ces molécules ont révolutionné la médecine moderne, sauvant des millions de vies. Toutefois, l'usage abusif, parfois inapproprié, tant dans le domaine médical qu'agroalimentaire, a favorisé l'émergence de souches bactériennes multi résistantes (Laxminarayan *et al.*, 2013). Ce phénomène limite considérablement les options thérapeutiques disponibles, notamment face à certaines infections nosocomiales. De plus, plusieurs traitements topiques, comme les crèmes ou pommades antimicrobiennes, deviennent inefficaces face à des souches cutanées résistantes. La découverte de nouvelles molécules bioactives, particulièrement issues de sources naturelles, devient alors une urgence scientifique mondiale (WHO, 2020).

Dans cette optique, les plantes médicinales représentent une alternative prometteuse, car elles ont évolué pour produire une grande diversité de métabolites secondaires – tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les diterpènes et les huiles essentielles – qui jouent un rôle de défense contre les pathogènes (Cowan, 1999). Ces substances, souvent bioactives, peuvent constituer des pistes sérieuses pour le développement de nouveaux traitements antimicrobiens. C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail, centré sur *Ballota hirsuta Benth.*, une plante appartenant à la famille des Lamiacées, endémique des régions méditerranéennes. Cette espèce est particulièrement répandue dans les zones rocheuses et montagneuses du nord-ouest de l'Algérie. Traditionnellement, *Ballota hirsuta* est utilisée dans la pharmacopée populaire locale pour soigner diverses affections respiratoires, les troubles digestifs, les plaies cutanées et les inflammations (Benhouhou, 2005 ; Bahramikia *et al.*, 2012). Le genre *Ballota* en général est reconnu pour sa richesse en composés phénoliques, en diterpènes labdaniques et en huiles essentielles à potentiel thérapeutique (Piozzi *et al.*, 2005 ; Kabouche *et al.*, 2007). Malgré cela, *B. hirsuta* demeure encore peu étudiée d'un point de vue pharmacologique, en particulier en ce qui concerne son activité antimicrobienne.

Le choix de cette plante repose donc sur une double motivation : d'une part, la valorisation du patrimoine phytothérapeutique local, et d'autre part, la nécessité de rechercher de nouvelles alternatives naturelles face aux résistances bactériennes, notamment contre les bactéries impliquées dans les infections liées aux soins, où les traitements conventionnels deviennent inefficaces. L'hypothèse centrale de ce travail est que *Ballota hirsuta* pourrait contenir des composés ayant une activité antimicrobienne mesurable contre des souches pathogènes humaines, y compris celles résistantes aux antibiotiques classiques. L'objectif principal de ce

travail est donc de déterminer si les extraits bruts de *Ballota hirsuta* possèdent une activité antibactérienne mesurable face à des bactéries pathogènes d'intérêt clinique.

Le présent mémoire est structuré en trois grandes parties. La première partie est une synthèse bibliographique, qui retrace les données actuelles sur les résistances bactériennes, l'intérêt des plantes médicinales dans ce contexte, et les connaissances botaniques et chimiques relatives au genre *Ballota*. La deuxième partie est consacrée aux matériels et méthodes, décrivant les protocoles d'extraction, les solvants utilisés, les techniques microbiologiques, et les souches bactériennes sélectionnées. Enfin, la troisième partie présente les résultats expérimentaux, leur interprétation et leur discussion critique, en soulignant les limites de l'étude et en ouvrant des pistes de recherche futures.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : *Ballota hirsuta*

1.1. Caractéristiques du genre *Ballota*

Le genre *Ballota*, de la famille des Lamiacées, comprend des espèces vivaces à port herbacé ou légèrement ligneux, caractérisées par des tiges quadrangulaires recouvertes de poils rigides (Quézel *et al.*, 1963). En français, cette plante est connue sous les noms de « ballote poilue » ou « faux marrube », tandis que dans la tradition populaire algérienne, elle est appelée « Merrou » ou « Merrou-el-Hrami » (Tutin *et al.*, 1972).

Les feuilles sont opposées, ovales avec une base en cœur. Les fleurs sont regroupées en épis de verticilles feuillés, souvent interrompus. Le calice, constitué d'un seul segment, est tubulaire, strié de dix lignes, et se termine par cinq dents pointues largement espacées (Quézel *et al.*, 1963). La corolle, de forme labiée, possède une lèvre supérieure droite, légèrement concave, et une lèvre inférieure à trois lobes, dont le central est le plus large et peut être échancré (Tutin *et al.*, 1972).

La plante présente quatre étamines réparties en deux paires inégales. Le gynécée est formé de quatre carpelles, d'où émerge un style mince terminé par un stigmate bifide. Le fruit contient quatre akènes nus, de forme ovale, insérés à la base du calice (Quézel *et al.*, 1963 ; Tutin *et al.*, 1972).

1.2. Répartition géographique du genre *Ballota*

1.2.1. À l'échelle mondiale

Le genre *Ballota* regroupe environ 33 espèces que l'on retrouve principalement dans les zones tempérées d'Europe, d'Afrique du Nord ainsi qu'en Asie occidentale. Cette diversité s'exprime plus fortement dans la région méditerranéenne, qui constitue un véritable centre de richesse spécifique pour ce genre (Citoglu *et al.*, 1998 ; Seidel *et al.*, 1999).

1.2.2. En Algérie

D'après les travaux de Quézel et Santa (1963), seules deux espèces vivaces du genre *Ballota* sont répertoriées sur le territoire algérien (*Ballota nigra* L et *Ballota hirsuta* Benth).. Ces espèces, localisées dans plusieurs régions biogéographiques, sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1: Répartition et traits morphologiques des espèces de *Ballota* en Algérie

(Adapté de Quézel et al., 1963)

Espèce	Zones de présence	Caractéristiques
<i>Ballota nigra</i> L.	Très répandue dans l'ensemble des régions d'Algérie	Plante herbacée avec des tiges non ligneuses ; calice en forme d'entonnoir doté de cinq petites dents légèrement tournées vers l'extérieur ; feuilles toutes pétiolées et dentées.
<i>Ballota hirsuta</i> Benth	Commune dans l'ouest algérien (Oranie), l'Atlas Saharien et le Sahara septentrional	Calice à forme élargie, de texture molle et à réseau veiné, avec cinq dents bien marquées ; feuilles supérieures sessiles aux bords peu marqués ; fleurs à corolle rosée, à lèvre supérieure divisée

1.3 *Ballota hirsuta*

1.3.1 Caractères botaniques de *Ballota hirsuta*

Ballota hirsuta est une plante vivace, possédant des tiges ligneuses et couvertes de poils, mesurant entre 24 et 60 cm de hauteur. Les feuilles supérieures sont sessiles et présentent des dents très obtuses. Les feuilles caulinaires inférieures et moyennes mesurent entre 3 et 6 cm de long et de 3 à 5 cm de large ; elles sont cordées ou tronquées à la base, ovales ou sous-ovales, et présentent des bords crénelés. Le pétiole des feuilles inférieures varie entre 5 et 40 mm de longueur. Le calice est caractérisé par un plissement longitudinal, avec dix nervures principales et cinq dents. Les bractées sont fines, linéaires et membraneuses. Les fleurs sont disposées en verticilles et la corolle est de couleur rosée, avec une lèvre supérieure bifide (Quézel et al., 1963).

Les habitats de *Ballota hirsuta* se rencontrent dans les forêts claires, les rochers, les broussailles, ainsi que dans les zones de plaine et de montagnes basses à moyennes (Bammi et al., 2004).

1.3.2 Conditions écologiques

Ballota hirsuta Benth. se développe principalement dans des environnements caractérisés par un sol calcaire basique ($\text{pH} > 7,5$) et une exposition ensoleillée. Cette plante persistante atteint environ 60 cm de hauteur et de largeur, avec une densité optimale de deux plants par mètre carré. Sa floraison, qui se produit entre juin et juillet, se manifeste par des fleurs de teinte rose pourpre (Kechar, 2016).

1.3.3 La classification de *Ballota hirsuta* Benth

La classification de *Ballota hirsuta* Benth. repose sur le système phylogénétique de l'Angiosperm Phylogeny Group II (APG II, 2003), basé sur des analyses moléculaires de l'ADN. Ce système hiérarchise les plantes à fleurs en grands clades, remplaçant progressivement les systèmes traditionnels fondés sur la morphologie.

- **Règne** : Plantae
- **Embranchement** : Tracheophyta (Plantes vasculaires)
- **Classe** : Magnoliopsida (Dicotylédones)
- **Clade 1** : Angiospermes
- **Clade 2** : Eudicotylédones (Dicotylédones vraies)
- **Clade 3** : Astéridées
- **Ordre** : Lamiales
- **Famille** : Lamiaceae (ou Labiatae)
- **Genre** : *Ballota*
- **Espèce** : *Ballota hirsuta* Benth.

1.3.4 Composition chimique de *Ballota hirsuta*

Ballota hirsuta, appartenant à la famille des Lamiacées, est une plante médicinale réputée pour sa richesse en métabolites secondaires bioactifs. Les analyses phytochimiques ont permis d'identifier plusieurs classes de composés, notamment des flavonoïdes, des acides phénoliques, des diterpènes labdaniques, des composés volatils et des huiles essentielles.

1.3.4.1 Flavonoïdes

À partir des parties aériennes de *Ballota hirsuta* Benth. (Lamiacées), quatorze flavonoïdes ont été isolés et identifiés, incluant six glycosides et huit aglycones

Les aglycones identifiés comprennent :

- Salvigénine (5-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone)
- Kumatakénine (5,4'-dihydroxy-3,7-diméthoxyflavone)
- Genkwanine (5,4'-dihydroxy-7-méthoxyflavone)
- Ladanéine (5,6-dihydroxy-7,4'-diméthoxyflavone)
- Nuchensine (5,6,3'-trihydroxy-7,4'-diméthoxyflavone)
- Isokaempferide (5,7,4'-trihydroxy-3-méthoxyflavone)
- Apigénine et lutéoline (Figure 1)

Les flavonoïdes glycosylés identifiés sont :

- Apigénine-7-(p-coumaroyl)-glucoside
- Apigénine-7-glucoside
- Lutéoline-7-glucoside
- Quercétine-3-glucoside
- Lutéoline-7-rutinoside
- Vicénine-2 (apigénine-6,8-di-C-glucoside) (Ferrerres *et al.*, 1986)

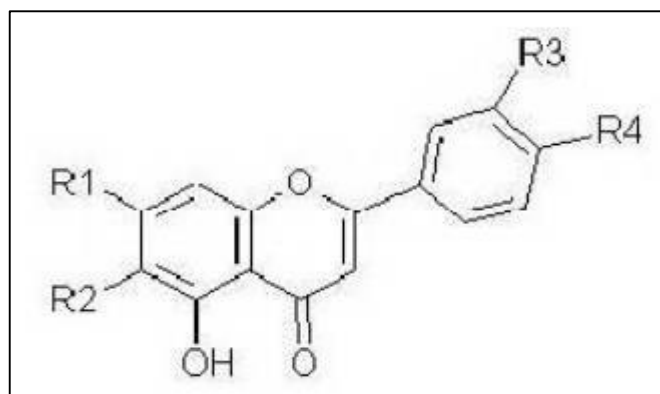


Figure 1 : Les structures de quelques aglycons flavonoïdes du *Ballota hirsuta Benth* (Kechar, 2016).

- Apigenin : R1 = R4 = OH; R2 = R3 = H
- Genkwanin : R1 = OCH3; R2 = R3 = H; R4 = H
- 7-4'- dimethylapigenin : R1 = R4 = OCH3; R2=R3 = H
- Ladanein : R1 = R4 = OCH3; R2 = OH; R3 = H
- Salvigenin : R1 = R2 = R4 = OCH3; R3 = H
- Luteolin : R1 = R3 = R4 = OH; R2 = H
- Nuchensin : R1 = R4 = OCH3; R2 = R3 = OH (Kechar, 2016).

1.3.4.2 . Acides phénoliques

Les analyses phytochimiques de *Ballota hirsuta*, notamment celles menées sur les extraits de feuilles, ont révélé la présence de plusieurs acides phénoliques, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Parmi les principaux acides identifiés :

- **Acide gallique** : un acide trihydroxybenzoïque, largement étudié pour ses puissantes propriétés antioxydantes (Shahidi *et al.*, 2015).
- **Acide caféique** : un acide hydroxycinnamique, connu pour ses effets antioxydants et anti-inflammatoires (Nabavi *et al.*, 2015).
- **Acide férulique** : réputé pour ses activités antioxydantes et son rôle protecteur contre les dommages oxydatifs cellulaires (Ou *et al.*, 2004).
- **Acide rosmarinique** : un ester de l'acide caféique, courant dans la famille des Lamiacées, qui possède des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes notables (Petersen *et al.*, 2003)(figure 2).

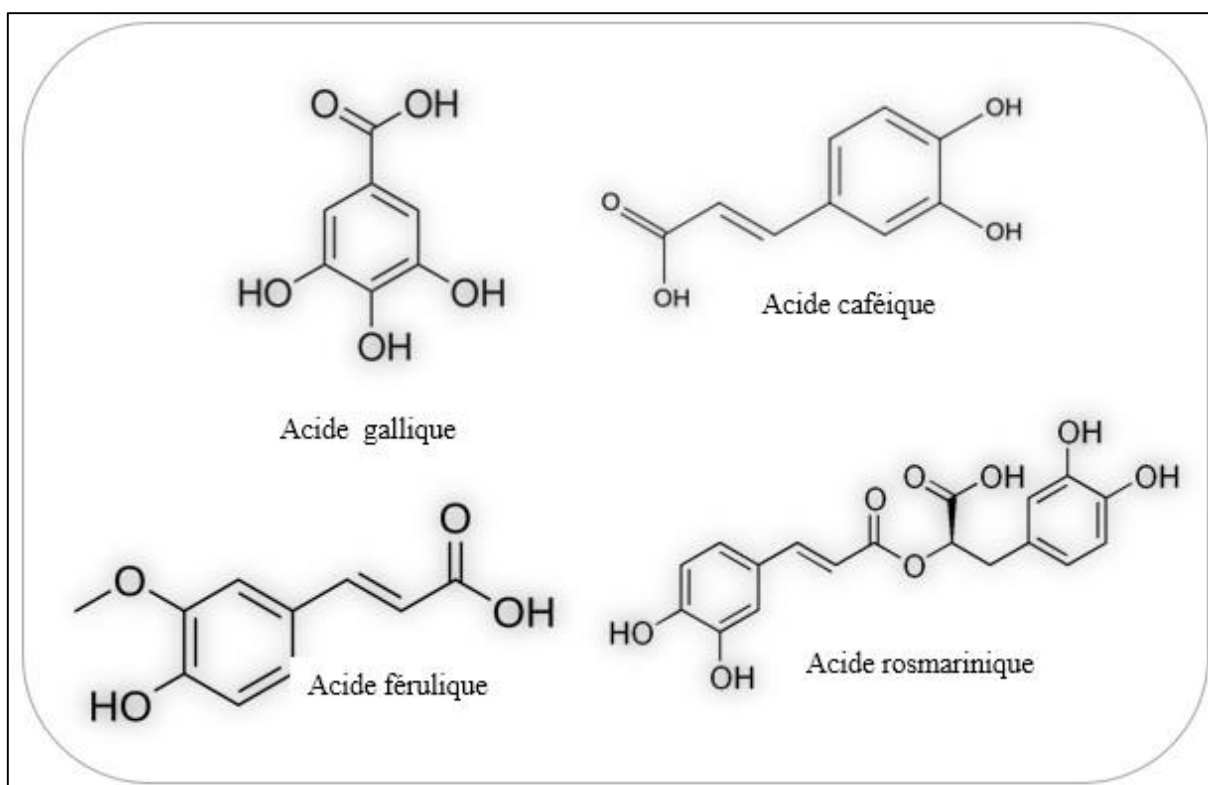


Figure 2 : Structures chimiques de quelques acides phénoliques (Wikimedia Commons,n.d.)

1.3.4.3. Les diterpènes

Les diterpènes représentent les constituants les plus étudiés de *Ballota hirsuta*, en particulier ceux de la famille des labdanes, qui sont des composés à 20 atomes de carbone. Ces

molécules sont dotées d'une diversité structurale leur conférant des propriétés biologiques variées. Le principal composé identifié est l'hispanolone (**figure 3**), un labdane furano-diterpénique possédant une activité anti-appétente démontrée contre la chenille *Spodoptera littoralis*, un ravageur agricole affectant le coton et le tabac (Ballesta *et al.*, 2007). Ce composé agit en perturbant le comportement alimentaire des larves, ce qui peut contribuer à la protection des cultures. D'autres études ont mis en évidence les effets antifongiques de l'hispanolone contre *Magnaporthe grisea*, un champignon phytopathogène provoquant la pyriculariose du riz (Albert, 2005). Outre l'hispanolone, on retrouve également des dérivés tels que la déshydrohispanolone et la ballonigrine, qui présentent des activités antimicrobiennes notables. Ces composés inhibent la croissance de bactéries Gram-positives comme *Staphylococcus aureus*, ainsi que de bactéries Gram-négatives et de levures telles que *Candida albicans* (Çitoğlu *et al.*, 1998).

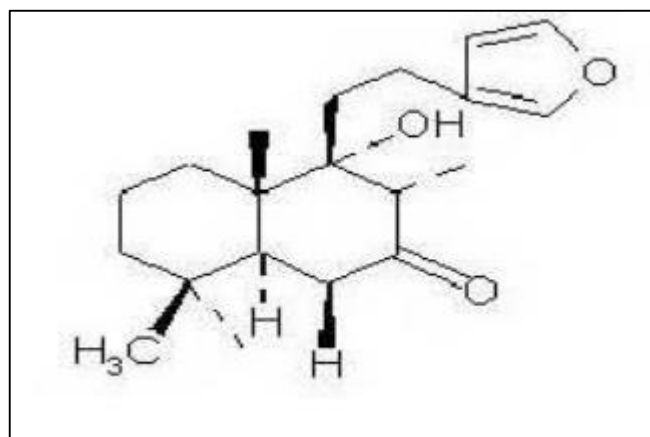


Figure 3 : Hispanolone (Kechar, 2016).

1.3.4.4 Composés volatils de *Ballota hirsuta*

L'huile essentielle de *Ballota hirsuta* est riche en composés volatils appartenant principalement aux familles des monoterpènes et des sesquiterpènes, qui confèrent à la plante ses activités biologiques remarquables. Ces molécules, généralement lipophiles et à faible poids moléculaire, agissent principalement sur les membranes cellulaires des micro-organismes, ce qui leur donne une action antimicrobienne rapide et efficace.

- **Spathuléol** : C'est un sesquiterpène oxygéné fréquemment identifié dans les plantes aromatiques. Dans *B. hirsuta*, il participe à l'effet antifongique global de l'huile essentielle. Il agit en perturbant la perméabilité membranaire des champignons, réduisant ainsi leur croissance (Lahbabi *et al.*, 2024).

- **Germacrène D** : Ce composé est un sesquiterpène hydrocarburé connu pour ses propriétés antibactériennes. Il agit en altérant les membranes bactériennes, causant la désintégration cellulaire. Il peut également avoir un effet répulsif sur certains insectes, ce qui le rend intéressant en lutte biologique (Adams, 2007).
- **Carvacrol** : Monoterpène phénolique très étudié, le carvacrol est reconnu pour son fort pouvoir antibactérien. Il provoque une désorganisation de la bicouche lipidique des membranes des bactéries, en particulier chez les souches Gram-positives et Gram-négatives résistantes (Ultee *et al.*, 2002).
- **Thymol** : De structure proche du carvacrol, il possède également des effets antifongiques notables. Il est capable de déstabiliser la membrane plasmique des levures et d'inhiber leur croissance, notamment chez *Candida albicans* (Marchese *et al.*, 2016).
- **β -Caryophyllène** : Ce sesquiterpène bicyclique est connu pour ses effets anti-inflammatoires et antibactériens. Il agit en activant sélectivement le récepteur CB2, réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires et renforçant ainsi la réponse immunitaire naturelle (Gertsch *et al.*, 2008).
- **α -Humulène** : C'est un autre sesquiterpène à activité anti-inflammatoire. Il module la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que la prostaglandine E2, tout en participant à l'effet antimicrobien synergique des huiles essentielles (Miguel, 2010).
- **1,8-Cinéole (Eucalyptol)** : Ce monoterpène oxygéné, bien connu dans les plantes médicinales comme l'eucalyptus, possède des effets mucolytiques, antiseptiques et anti-inflammatoires. Son mécanisme d'action repose sur l'inhibition de la synthèse des prostaglandines et la réduction de l'agrégation leucocytaire, ce qui en fait un composé utile dans les affections respiratoires et infectieuses (Juergens, 2014).

La composition chimique de cette huile essentielle peut varier selon plusieurs facteurs tels que l'origine géographique, la période de récolte, les conditions climatiques ou la méthode d'extraction. Toutefois, la synergie entre ces composés assure une large gamme d'activités biologiques, notamment antibactériennes, antifongiques, insecticides et anti-inflammatoires, qui justifient l'intérêt croissant porté à *Ballota hirsuta* dans les applications pharmaceutiques et agrochimiques (Lahbabi *et al.* 2024).

1.3.5 Utilisation traditionnelle de *Ballota hirsuta* en Algérie

Ballota hirsuta est largement employée dans les pratiques médicinales traditionnelles en Algérie, notamment pour traiter les contusions, les douleurs rhumatismales et les troubles nerveux tels que l'anxiété. Ses feuilles sont souvent utilisées en application locale pour soulager les blessures et inflammations (Bussmann *et al.* 2021).

1.3.6 Activités biologiques de *Ballota hirsuta*

1.3.6.1 . Activité antimicrobienne

Bien que les données disponibles sur *Ballota hirsuta* soient encore peu nombreuses, certaines études ont mis en évidence son potentiel antimicrobien. Des extraits de cette plante ont montré une activité modérée contre plusieurs souches bactériennes, attribuée à la présence de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les diterpènes et les phénols (Benhouhou *et al.*, 2019 ; Kechar *et al.*, 2021). Ces composés sont connus pour leur capacité à perturber la membrane cellulaire des micro-organismes ou à inhiber des enzymes vitales.

En ce qui concerne l'activité antifongique, les études spécifiques sur *Ballota hirsuta* restent très limitées. Toutefois, quelques travaux préliminaires suggèrent une faible inhibition de certaines souches de *Candida albicans*, bien que les résultats ne soient pas concluants ou largement documentés (Kechar *et al.*, 2021).

À l'heure actuelle, aucune étude fiable n'a rapporté d'activité antivirale ou antiparasitaire pour *Ballota hirsuta*. Aucune donnée expérimentale n'a été publiée sur l'effet de cette espèce vis-à-vis de virus humains ou animaux, ni contre des parasites protozoaires ou helminthes. Par conséquent, d'autres investigations sont nécessaires pour évaluer son potentiel dans ces domaines.

1.3.6.2 Activité antioxydante

Grâce à une concentration élevée en polyphénols et flavonoïdes, *Ballota hirsuta* possède une activité antioxydante significative. Elle est capable de piéger les radicaux libres (test DPPH) et de réduire les métaux (test FRAP), contribuant ainsi à la protection des cellules contre le stress oxydatif. Ces propriétés antioxydantes renforcent également les effets antimicrobiens et anti-inflammatoires (Dorman *et al.*, 2003 ; Zengin *et al.*, 2013).

1.3.6.3 Activité anti-inflammatoire

Certaines études suggèrent une activité anti-inflammatoire modérée des extraits de *Ballota hirsuta*, probablement liée à l'inhibition d'enzymes telles que la cyclooxygénase et la lipoxygénase, ce qui réduit la biosynthèse des médiateurs de l'inflammation. Ces effets sont principalement liés à la présence de flavonoïdes et d'acides phénoliques (Yildirim *et al.*, 2001).

1.3.6.4 Activité insecticide et répulsive

Les extraits et huiles essentielles de *Ballota hirsuta* ont montré une activité insecticide contre certains ravageurs. Les composés terpéniques, notamment les diterpènes, pourraient agir sur le système nerveux des insectes ou altérer leur comportement alimentaire, ce qui suggère un intérêt pour la protection phytosanitaire (Isman, 2000).

1.3.6.5 Activité cytotoxique (anticancéreuse potentielle)

Des études *in vitro* ont révélé une certaine cytotoxicité de *Ballota hirsuta* sur des lignées cellulaires cancéreuses. Ces effets sont probablement dus à la présence de glycosides phénylthanoïdes, de flavonoïdes et de diterpènes. Toutefois, les données restent limitées et nécessitent des investigations complémentaires (Karioti *et al.*, 2007).

1.3.6.6 Activité neuroprotectrice (potentielle)

Bien que peu étudiée spécifiquement pour *Ballota hirsuta*, certaines espèces du genre *Ballota*, comme *Ballota nigra*, ont montré des effets neuroprotecteurs liés à leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Il est donc plausible que *B. hirsuta* possède des effets similaires, en raison de profils phytochimiques proches (Barros *et al.*, 2011).

1.3.7 Risques, précautions d'usage et toxicité de *Ballota hirsuta*

Bien que traditionnellement utilisée, la consommation de *Ballota hirsuta* doit faire l'objet de prudence, notamment chez les femmes enceintes, car la plante peut provoquer des effets stimulants sur le système reproducteur. Son usage doit être limité et surveillé afin d'éviter d'éventuels effets secondaires (Bussmann *et al.*, 2021).

Les données disponibles sur la toxicité de *Ballota hirsuta* restent limitées. Cependant, cette plante est généralement considérée comme sûre lorsqu'elle est utilisée dans un cadre traditionnel et à des doses modérées. Des études ethnobotaniques réalisées en Algérie, notamment dans la région de Sidi Bel Abbès, indiquent qu'elle est couramment employée sans

effets secondaires rapportés, suggérant une faible toxicité dans le contexte d'usages populaires (Kechar *et al.* . 2016).

Toutefois, *Ballota hirsuta* contient des composés bioactifs tels que les diterpènes labdaniques, dont certaines formes peuvent présenter une toxicité potentielle à forte dose. Par conséquent, certaines sources recommandent la prudence, notamment chez les femmes enceintes, en raison d'éventuels effets emménagogues (Bussmann *et al.*, 2021). À ce jour, aucune étude toxicologique approfondie (in vivo ou in vitro) n'a été publiée, ce qui limite une évaluation précise de son profil de sécurité.

Chapitre 2 : Bactéries pathogènes et résistance aux antibiotiques

2.1 Les bactéries pathogènes

2.1.1 Définition des bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes sont des micro-organismes unicellulaires capables de provoquer des maladies infectieuses chez l'être humain, les animaux ou les plantes. Elles appartiennent à différentes espèces, gram-positives ou gram-négatives, et possèdent des mécanismes spécifiques leur permettant d'envahir l'hôte, de se multiplier et d'échapper aux défenses immunitaires. Ces mécanismes incluent notamment la production de toxines, la formation de biofilms, la résistance aux antibiotiques, ou encore l'adhésion aux cellules de l'hôte (Madigan *et al.*, 2018).

Certaines bactéries sont strictement pathogènes, c'est-à-dire qu'elles provoquent toujours une maladie lorsqu'elles infectent un hôte sensible, comme *Mycobacterium tuberculosis* ou *Salmonella enterica*. D'autres, dites opportunistes, deviennent pathogènes seulement dans des conditions particulières, comme une immunodépression ou une rupture de la barrière cutanée (*Pseudomonas aeruginosa*, par exemple) (Tortora *et al.*, 2020).

La pathogénicité bactérienne dépend aussi du contexte environnemental, du microbiote naturel de l'hôte, et des facteurs de virulence exprimés par la bactérie au moment de l'infection.

2.1.2. Classification des bactéries pathogènes d'intérêt médical

La classification des bactéries pathogènes d'intérêt médical diffère fondamentalement de la classification phylogénétique utilisée en biologie systématique. Alors que la classification classique repose sur des critères génétiques et évolutifs (tels que les séquences d'ADN ou d'ARN 16S), la classification médicale est principalement fonctionnelle et clinique. Elle vise à orienter le diagnostic microbiologique, le traitement antimicrobien et la surveillance des infections, en tenant compte des caractéristiques morphologiques, biochimiques et pathogéniques des bactéries (Tortora, Funke, *et al.*, 2020).

Plusieurs critères interdépendants sont utilisés pour classer les bactéries d'intérêt médical, coloration de Gram, forme cellulaire, métabolisme de l'oxygène Tropicité tissulaire et pathogénicité où Certaines bactéries montrent une affinité particulière pour des tissus ou des organes spécifiques comme *Neisseria meningitidis* qui affecte le système nerveux central, *Helicobacter pylori* qui colonise la muqueuse gastrique et *E. coli* uropathogène qui provoque

des infections urinaires (Tortora *et al.*, 2020). Enfin, la résistance aux antibiotiques comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), *Entérobactéries* productrices de β -lactamases à spectre étendu (ESBL) et *Entérobactéries* résistantes aux carbapénèmes (CDC, 2019 ; WHO, 2017)

Contrairement à la classification phylogénétique qui vise à établir les relations évolutives entre les organismes, la classification médicale est orientée vers l'utilité clinique. Elle s'adapte aux évolutions en matière de résistance, d'épidémiologie ou de nouvelles pathologies. Par exemple, deux bactéries proches génétiquement peuvent être classées différemment sur le plan médical si l'une est multi résistante ou si elle cause une maladie sévère, tandis que l'autre est bénigne ou opportuniste (Madigan *et al.*, 2018).

Ainsi, la classification des bactéries pathogènes en médecine est dynamique, évolutive et essentielle pour la santé publique. Elle permet une meilleure prise en charge thérapeutique, un contrôle plus efficace des infections nosocomiales, et une réponse adaptée aux émergences bactériennes dans un contexte de crise antimicrobienne mondiale (CDC, 2019 ; WHO, 2017).

2.1.3. Mécanismes d'infection et pouvoir pathogène

Le processus infectieux commence lorsque le micro-organisme franchit les barrières de protection de l'hôte (peau, muqueuses) pour atteindre des tissus internes. Une fois établi, il peut produire des enzymes, des toxines ou utiliser des systèmes d'échappement immunitaire pour se multiplier et se propager. Le pouvoir pathogène (ou virulence) désigne l'intensité avec laquelle un agent infectieux provoque une maladie, influencée par des facteurs tels que l'inoculum, la résistance de l'hôte et les propriétés génétiques du micro-organisme (Tortora *et al.*, 2020).

2.2 Résistance bactérienne aux antibiotiques

2.2.1 Définition et historique de la résistance

La résistance bactérienne aux antibiotiques se définit comme la capacité d'une bactérie à survivre et à se multiplier malgré la présence d'un ou plusieurs antibiotiques censés l'éliminer ou inhiber sa croissance. Ce phénomène a été observé peu après l'introduction de la pénicilline dans les années 1940, avec l'apparition rapide de souches de *Staphylococcus aureus* résistantes (Davies *et al.*, 2010). Depuis, l'utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques a considérablement accéléré l'émergence de résistances.

2.2.2 Mécanismes de résistance

Les bactéries peuvent résister aux antibiotiques par divers mécanismes :

Inactivation enzymatique : production d'enzymes qui détruisent ou modifient l'antibiotique (ex. : β -lactamases).

Systèmes d'efflux : expulsion active de l'antibiotique hors de la cellule.

Modification de la cible : mutations des protéines ciblées réduisant l'affinité de l'antibiotique.

Imperméabilité : altération de la perméabilité de la membrane pour empêcher l'entrée de l'antibiotique (Munita *et al.*, 2016).

2.2.3 Résistance naturelle et résistance acquise

La résistance naturelle est inhérente à certaines espèces bactériennes. Par exemple, *Pseudomonas aeruginosa* est naturellement résistante à plusieurs classes d'antibiotiques. À l'inverse, la résistance acquise se développe par mutation ou par transfert horizontal de gènes de résistance via des plasmides, transposons ou phages (Blair *et al.*, 2015).

2.2.4 Résistances croisées et multi-résistance

On parle de résistance croisée lorsqu'une bactérie résiste à plusieurs antibiotiques de la même famille. La multi-résistance désigne une résistance à au moins une molécule dans trois classes différentes d'antibiotiques. XDR (résistance étendue aux antibiotiques) concerne des bactéries résistantes à presque toutes les options thérapeutiques disponibles, ce qui complique fortement leur prise en charge (Magiorakos *et al.*, 2012).

2.2.5 Bactéries pathogènes résistantes en milieu hospitalier

En milieu hospitalier, les infections causées par des bactéries multi résistantes représentent un défi clinique majeur. Ces agents pathogènes ont acquis des mécanismes leur permettant de résister à plusieurs classes d'antibiotiques, ce qui complique considérablement la prise en charge thérapeutique, allonge la durée d'hospitalisation et augmente le risque de complications graves, voire de décès. Ces bactéries exploitent des stratégies telles que la production d'enzymes dégradant les antibiotiques (β -lactamases, carbapénémases), des

mutations altérant les cibles moléculaires des médicaments ou encore des systèmes d'efflux expulsant les substances actives hors de la cellule (Tortora *et al.*, 2020).

Parmi les espèces les plus fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales résistantes, plusieurs se distinguent par leur prévalence et leur gravité.

2.2.5.1. Entérobactéries multirésistantes

Les entérobactéries comme *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.* et *Klebsiella pneumoniae* sont des agents fréquents d'infections urinaires, respiratoires ou systémiques. La production de β -lactamases à spectre étendu (ESBL) leur confère une résistance aux céphalosporines de troisième génération, et ces souches sont souvent co-résistantes à d'autres familles d'antibiotiques (CDC, 2019).

E. coli, habituellement commensale, peut devenir pathogène, notamment en cas de translocation intestinale ou chez les patients immunodéprimés. Certaines souches combinent la production d'ESBL avec une résistance aux quinolones, compliquant les traitements (Madigan, Bender, Buckley, Sattley, *et al.*, 2018).

Klebsiella pneumoniae, quant à elle, peut produire des carbapénémases telles que KPC ou NDM, enzymes capables d'hydrolyser les carbapénèmes, antibiotiques souvent utilisés en dernier recours (CDC, 2019).

2.2.5.2. Acinetobacter baumannii multirésistant

Acinetobacter baumannii est une bactérie Gram négatif opportuniste souvent rencontrée dans les services de soins intensifs. Sa capacité à survivre longtemps sur les surfaces hospitalières facilite sa transmission. Elle présente une résistance étendue, en particulier aux carbapénèmes, grâce à la production de β -lactamases de type OXA, à l'activation de pompes d'efflux et à des modifications des porines membranaires (WHO, 2017).

2.2.5.3. Pseudomonas aeruginosa résistante aux carbapénèmes

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie Gram négatif non fermentaire, naturellement résistante à de nombreux antibiotiques grâce à sa faible perméabilité membranaire et à ses pompes d'efflux. Elle peut également acquérir une résistance aux carbapénèmes, notamment par la production de métallob β -lactamases ou la perte de porines. Elle est responsable d'infections graves, en particulier pulmonaires, urinaires et cutanées, notamment chez les patients sous ventilation mécanique ou immunodéprimés (WHO, 2017).

2.2.5.4. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM)

Staphylococcus aureus est un cocci Gram positif fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales, notamment cutanées, ostéo-articulaires, pulmonaires et sanguines. Les souches résistantes à la méthicilline (SARM) possèdent le gène *mecA*, qui code pour une protéine de liaison aux pénicillines altérée (PBP2a), rendant inefficaces les antibiotiques β -lactamines (Tortora *et al.* 2020).

2.2.5.5. *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis est une bactérie à Gram positif naturellement présente dans la flore intestinale humaine, mais qui peut devenir pathogène en milieu hospitalier, provoquant des infections urinaires, endocardites ou infections de plaies. Certaines souches ont développé une résistance élevée à la vancomycine, un antibiotique de dernier recours, via l'acquisition des gènes *vanA* ou *vanB* (O'Driscoll *et al.*, 2015). Cette résistance rend le traitement des infections entérococciques particulièrement difficile, notamment chez les patients immunodéprimés ou porteurs de dispositifs médicaux.

2.3 Impact de la résistance bactérienne

2.3.1 Enjeux de santé publique

La résistance aux antibiotiques représente une menace croissante pour la santé publique mondiale. Elle est responsable d'une augmentation des décès liés aux infections bactériennes et alourdit les dépenses de santé à travers le monde, en raison des traitements prolongés, des médicaments plus coûteux, et de l'inefficacité des thérapies standards (WHO, 2014).

2.3.2 Difficultés thérapeutiques

La montée des bactéries multi résistantes complique considérablement la prise en charge clinique. Les traitements usuels ne suffisent plus, obligeant à recourir à des antibiotiques de dernier recours ou à des associations médicamenteuses complexes, ce qui allonge la durée de guérison et expose à davantage d'effets secondaires (Ventola, 2015).

2.3.3 Résistance dans les infections nosocomiales

Les milieux hospitaliers, notamment les services de soins intensifs, sont particulièrement touchés par la propagation de bactéries multi résistantes. Des agents pathogènes tels que *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, et *Pseudomonas aeruginosa* sont

fréquemment impliqués dans les infections nosocomiales, et leur résistance élevée limite drastiquement les options thérapeutiques (Prestinaci *et al.*, 2015 ; Cassini *et al.*, 2019).

2.4 Besoin de nouvelles alternatives thérapeutiques

2.4.1 Limites des antibiotiques conventionnels

Les antibiotiques classiques, bien qu'efficaces depuis des décennies, présentent aujourd'hui des limites importantes face à la montée de la résistance bactérienne. Leur usage intensif, parfois inapproprié, a favorisé l'émergence de souches multirésistantes contre lesquelles les traitements actuels deviennent inefficaces. De plus, le développement de nouveaux antibiotiques est lent, coûteux, et souvent peu rentable, ce qui réduit considérablement les options disponibles en thérapeutique moderne (Fair *et al.*, 2014 ; Ventola, 2015).

2.4.2 Rôle potentiel des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'Antiquité pour traiter diverses affections, et suscitent aujourd'hui un regain d'intérêt en tant qu'alternatives naturelles. Elles contiennent une variété de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes ou les terpènes, reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Leur complexité chimique rend plus difficile l'apparition de résistances bactériennes comparée aux antibiotiques de synthèse (Cowan, 1999 ; Nostro *et al.*, 2012).

- **Les extraits végétaux comme solution prometteuse**

Les extraits issus de plantes médicinales présentent un fort potentiel en tant qu'agents antimicrobiens naturels. Des recherches ont démontré que certains extraits peuvent inhiber la croissance de bactéries pathogènes, y compris celles résistantes aux antibiotiques conventionnels. Leur action peut être directe, en détruisant la membrane bactérienne, ou indirecte, en inhibant des enzymes ou en modulant les mécanismes de résistance (Abreu *et al.*, 2012 ; Ríos *et al.*, 2005). Ces extraits pourraient constituer une source précieuse pour le développement de nouvelles thérapeutiques.

Matériel et méthodes

1. Lieu d'étude

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen

2. Matériel

2.1. Matériel de laboratoire

- Matériel pour la préparation des extraits végétaux :
 - Mortier et pilon (pour le broyage des feuilles séchées)
 - Fioles jaugées, béchers, erlenmeyers
 - Filtres à papier Whatman n° 589 s
 - Pipettes manuelles et automatiques
 - Agitateur magnétique avec plaque chauffante (Figure 4)



Figure 4 : plaque chauffante

- Matériel pour les tests microbiologiques
 - Boîtes de Pétri stériles
 - Balance (figure 5)
 - Tubes à essai stériles
 - Pipettes automatiques (100 μ L, 1 ml, 5 ml)
 - Étuve à 37 °C (incubation)
 - Autoclave (stérilisation)
 - Échelle de Macfarlane (standardisation des suspensions bactériennes)



Figure 5 : une balance

2.2. Matériel biologique

2.2.1. Souches microbiennes testées

Dans cette étude, les extraits de *Ballota hirsuta* ont été évalués sur des souches de référence (ATCC) ainsi que sur des souches pathogènes cliniques.

- **Souches de référence** : Il s'agit de souches standardisées issues de la collection américaine ATCC (*American Type Culture Collection*), couramment utilisées comme témoins positifs pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens. Les souches utilisées sont listées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Souches bactériennes de référence utilisées dans cette étude

Espèce	Reference	Type de Gram
<i>Escherichia coli</i> TEM	ATCC 35218	Gram négatif
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Gram négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Gram négatif
<i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE	ATCC 700603	Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	Gram positif
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant (SARM)	ATCC 12493	Gram positif
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Gram positif

□ Souches pathogènes cliniques

Les souches bactériennes pathogènes utilisées dans cette étude (tableau 3) ont été isolées à partir d'échantillons cliniques collectés par Mme Ayad Amel au niveau des services de réanimation et des urgences médicales et chirurgicales (UMC) au CHU de Tlemcen.

Tableau 3 : Souches bactériennes pathogènes utilisées dans l'étude avec leur origine

Espèce	Code	Type de Gram	Service	Origine
<i>Escherichia coli</i>	EC10	Gram négatif	Réanimation	Aspiration tracial
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KP1	Gram négatif	Réanimation	Sonde vésical
<i>Enterobacter cloacae</i>	E8	Gram négatif	Réanimation	Prélèvement rectal
<i>Providencia stuartii</i>	PSTU2	Gram négatif	UMC	Aspiration tracial
<i>Acinetobacter baumannii</i>	A8	Gram négatif	Réanimation	Aspiration tracial
<i>Staphylococcus aureus</i>	7R	Gram positif	Réanimation	Sondes urinaires

2.2.2. Matériel végétal

La plante *Ballota hirsuta* Benth. a été récoltée en janvier 2025 dans la région de Tlemcen (Algérie), plus précisément à Zaouïa El Yagoubi, située dans la commune de Nedroma. Seules les feuilles, représentant la partie aérienne de la plante, ont été collectées pour l'étude. L'identification botanique de l'espèce a été réalisée par le Dr Baba Ali Ibrahim, enseignant-chercheur botaniste au département d'Écologie de la faculté SNV/STU de l'Université de Tlemcen. En se basant sur les caractéristiques morphologiques conformes à la description taxonomique de l'espèce.

2.3. Milieux de culture utilisés

- **Gélose nutritive (GN)** : utilisée pour la culture générale des bactéries non exigeantes (Cappuccino *et al.*, 2017).
- **Gélose Chapman** : milieu sélectif contenant du mannitol et du chlorure de sodium, destiné à l'isolement des staphylocoques, en particulier *Staphylococcus aureus* (Forbes, *et al.*, 2007).
- **Gélose Mueller-Hinton (MH)** : milieu de référence pour les tests de sensibilité aux antibiotiques par diffusion selon les recommandations du CLSI (CLSI, 2020).
- **Bouillon Mueller-Hinton (MH Broth)** : utilisé dans les méthodes de dilution en milieu liquide pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) (CLSI, 2020).
- **Milieu MacConkey** : milieu sélectif et différentiel pour les bactéries Gram négatives, basé sur leur capacité à fermenter le lactose (Atlas, 2010).

- **Milieu BEA (Bile Esculin Agar)** : destiné à l'identification des entérocoques par hydrolyse de l'esculine en présence de bile (Cappuccino *et al.*, 2017).
- **Bouillon BHI (Brain Heart Infusion)** : milieu nutritif enrichi, adapté à la culture de bactéries exigeantes et à la préparation des inocula (Atlas, 2010).

2.4. Solvants utilisés

- **Solvants polaires** : eau distillé, méthanol (70 %), et éthanol (70 %).
- **Solvants moyennement polaires** : chloroforme, dichlorométhane, acétate d'éthyle.
- **Solvants apolaires** : hexane.

3. Méthodes

3.1. Préparation des extraits végétaux de *Ballota hirsuta*

3.1.1. Séchage et broyage de la matière végétale

La partie aérienne de *Ballota hirsuta* a été récoltée, puis soigneusement séchée à l'air libre, à l'abri de la lumière directe et de l'humidité, pendant une période de 21 jours. Une fois complètement desséchée, la matière végétale a été broyée finement à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue a ensuite été conservée dans des flacons en verre hermétiquement fermés, stockés au réfrigérateur jusqu'au moment de l'extraction, afin de préserver ses constituants bioactifs (Harborne, 1998).

3.1.2. Délipidation des extraits de *Ballota hirsuta*

Dans le but d'éliminer les composés lipophiles susceptibles d'interférer avec l'évaluation de l'activité antimicrobienne, une étape de délipidation a été effectuée avant l'extraction principale. Cette opération a été réalisée au laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV), Université de Tlemcen, à l'aide d'un appareil Soxhlet.

Une quantité de 20 grammes de poudre de feuilles séchées de *Ballota hirsuta* a été introduite dans la cartouche de l'extracteur, puis soumise à une extraction continue avec 250 mL d'hexane pendant une durée de 6 heures (figure 6). Ce procédé permet de dissoudre efficacement les lipides et autres composés non polaires, laissant une matrice végétale plus apte à libérer ses constituants polaires lors de l'extraction ultérieure (Harborne, 1998 ; Sofowora, 1993). Après l'extraction, le résidu végétal a été séché à température ambiante à l'abri de la lumière avant

d'être utilisé pour l'extraction des composés bioactifs. Cette étape améliore la qualité et la spécificité des extraits obtenus pour les essais biologiques (Eloff, 1998).



Figure 6 : délipidation par l'utilisation du Soxhle)

3.1.3. Macération

Les mélanges poudre/solvant (10g /100 ml (Bouterfas *et al.*, 2016) ou 20 g/ 200 ml (Righi *et al.*, 2013).) ont été soumis à une macération à froid (figure 7), sous agitation continue, pendant une durée de 48 à 72 heures à 18C°.

Cette technique a pour but d'extraire les composés bioactifs tout en préservant ceux sensibles à la chaleur (Azwanida, 2015).



Figure 7 : macération à froid

3.1.4. Filtration

Après la macération, chaque mélange a d'abord été grossièrement filtré à l'aide d'une passoire métallique stérile afin d'éliminer les débris végétaux les plus volumineux. Le liquide obtenu a ensuite été soumis à une filtration plus fine à l'aide de papier filtre Whatman n° 589 s

(figure 8), ce qui a permis de séparer les particules végétales résiduelles du filtrat contenant les composés bioactifs solubles (Harborne, 1998).



Figure 8 : filtration

3.1.5. Evaporation

Après filtration, les extraits liquides ont été concentrés afin d'éliminer les solvants et de récupérer les composés actifs. Cette opération a été réalisée dans le laboratoire pédagogique de biochimie de la faculté SNV/STU à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavap) fonctionnant sous pression réduite, permettant une évaporation douce à basse température, favorable à la préservation des constituants thermosensibles.

Pour l'ensemble des extraits organiques l'évaporation a été réalisée par rotavap (figure 9) à l'exception de l'extrait aqueux, incompatible avec cette technique, qui a été directement soumis à un séchage dans l'étuve à 45 °C dans des boîtes de Pétri en verre(figure 10), jusqu'à évaporation complète de l'eau. Cette méthode d'évaporation est couramment utilisée dans les protocoles de phytothérapie pour garantir l'intégrité des métabolites bioactifs extraits (Azwanida, 2015).

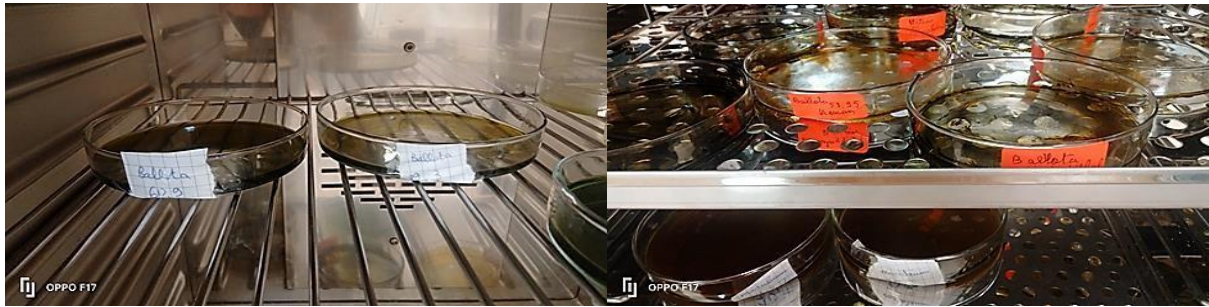


Figure 9 : Séchage



Figure 10 : évaporateur rotatif

3.1.6. Récupération des extraits secs

Une fois secs, les extraits ont été soigneusement récupérés par grattage à l'aide de spatules stériles, puis transférés dans des tubes Eppendorf préalablement étiquetés. Afin de garantir leur stabilité, les échantillons ont été enveloppés dans du papier aluminium, puis stockés au réfrigérateur, à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur.

3.2. Rendements d'extraction

Le rendement d'extraction pour chaque solvant a été calculé en comparant la masse de l'extrait sec obtenu après évaporation à la masse de plante sèche utilisée, selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M_{ext}}{M_{éch}} \times 100$$

- R : le rendement d'extraction en pourcentage,

- *Mext* : la masse de l'extrait sec (en grammes), obtenue après évaporation complète du solvant,
- *Méch* : la masse initiale de matière végétale sèche (en grammes).

3.3. Préparation des souches microbiennes.

3.3.1. Révifification des souches en milieu liquide

À partir d'une gélose profonde ou des cryotubes une petite quantité de chaque souche a été prélevée à l'aide d'une anse stérile dans des conditions aseptiques, puis ensemencée dans des tubes contenant 5 à 10 ml de bouillon nutritif stérile. Ces tubes ont été incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures dans une étuve, afin de permettre une réactivation et une multiplication suffisante des bactéries.

3.3.2. Isolement sur milieux sélectifs et différentiels

Après incubation en milieu liquide, un repiquage a été effectué sur des milieux solides spécifiques selon le type de bactérie. Le repiquage a été réalisé par épuisement à l'aide d'une anse stérile sur la surface de boîtes de Pétri contenant le milieu Chapman (mannitol salt agar) milieu sélectif pour les staphylocoques, le milieu MacConkey, milieu sélectif pour les bactéries à Gram négatif et le milieu BEA (Bile Esculine Azide Agar), milieu sélectif pour les entérocoques. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures.

3.3.3. Vérification de la pureté des cultures

Après incubation, les boîtes ont été examinées visuellement pour évaluer la morphologie des colonies : forme, couleur, taille, relief et aspect de surface. Une seule colonie caractéristique a été prélevée à l'aide d'une anse stérile et repiquée sur le même milieu sélectif pour assurer la pureté de la souche. Cette étape a été répétée si nécessaire jusqu'à l'obtention d'une culture pure. Les cultures pures ainsi obtenues ont été utilisées pour les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne de *Ballota hirsuta*.

3.4. Etude de l'activité antibactérienne

3.4.1. La méthode de diffusion sur disque

3.4.1.1. Principe de la méthode

L'activité antimicrobienne des extraits végétaux de *Ballota hirsuta* a été évaluée selon les recommandations du Comité Européen de l'Antibiogramme (EUCAST) en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Cette technique consiste à déposer des disques de papier

stériles, imprégnés de l'extrait à tester, sur la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec la souche bactérienne ciblée. Après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures, l'efficacité de l'extrait est déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. Cette méthode normalisée permet une estimation comparative de l'activité antimicrobienne selon les critères fixés par l'EUCAST (EUCAST, 2023).

3.4.1.2. Préparation des solutions d'extrait

Les extraits secs obtenus après évaporation ont été utilisés pour préparer différentes concentrations. Chaque extrait a d'abord été dissous dans de l'eau distillée stérile afin d'obtenir une solution concentrée à 50 mg/ml. Des dilutions successives ont ensuite été réalisées pour obtenir deux autres concentrations de travail, à savoir 20 mg/ml et 10 mg/ml. (Annexe) Ainsi, trois concentrations finales (10, 20 et 50 mg/ml) ont été utilisées lors des tests afin d'évaluer l'effet dose-dépendant de l'activité antimicrobienne des extraits de *Ballota hirsuta*.

3.4.1.3. Préparation de l'inoculum bactérien

Pour chaque souche bactérienne testée, un inoculum a été préparé à partir de colonies jeunes âgées de 18 à 24 heures, cultivées sur milieu solide. Une suspension a été réalisée dans une solution physiologique stérile (NaCl 0,9 %). La turbidité de cette suspension a ensuite été ajustée à l'aide de l'échelle de densité optique de 0,5 McFarlane (figure 11), ce qui correspond approximativement à une concentration de 10^8 UFC/ml.



Figure 11: McFarland

Les milieux de culture, à base de gélose Mueller-Hinton, ont été ensemencés par étalement stérile à l'aide d'un écouvillon imbibé de la suspension bactérienne standardisée, de manière à obtenir un tapis bactérien uniforme.

3.4.1.4. Préparation des disques d'essai

Les disques utilisés pour le test de diffusion ont été préparés manuellement à partir de papier filtre de type Whatman. À l'aide d'un emporte-pièce métallique, des disques d'environ 6 mm de diamètre ont été découpés avec précision. Afin de garantir leur stérilité, les disques ont ensuite été placés dans des boîtes de Pétri fermées, puis stérilisés à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Après refroidissement, les disques stériles ont été conservés dans des conditions aseptiques jusqu'à leur utilisation.

3.4.1.5. Dépôt des disques

Des disques stériles de 6 mm de diamètre ont été déposés à la surface des boîtes préalablement ensemencés par la souche bactérienne à tester. Ces disques sont ensuite imprégnés de

5 µL d'extrait végétal à trois concentrations (10, 20 et 50 mg/ml).

En parallèle, des disques d'antibiotiques de référence ont été utilisés. La pénicilline G (10 UI) a été appliquée pour les souches à Gram positif, tandis que l'ampicilline (10 µg) a été utilisée pour les souches de référence à Gram négatif. Pour les souches pathogènes multi résistantes à Gram négatif, le méropénème (10 µg) a été sélectionné en raison de son large spectre et de son efficacité reconnue contre les bactéries hospitalières résistantes.

3.4.1.6. Incubation et lecture

Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres à l'aide d'une règle graduée, permettant d'évaluer l'effet antibactérien de chaque extrait selon la concentration et le type de solvant utilisé.

3.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

3.5.1. Principe de la méthode

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus faible concentration d'un agent antimicrobien empêchant toute croissance visible d'un microorganisme après une incubation standardisée. Cette méthode repose sur des dilutions en milieu liquide, généralement réalisées dans des plaques à 96 puits, en respectant des conditions précises : inoculum standardisé, milieu de culture approprié, température de 35 ± 1 °C et durée d'incubation de 18 à 24 heures. La CMI permet ainsi d'évaluer avec précision l'efficacité antimicrobienne d'un composé dans des conditions contrôlées (EUCAST, 2023).

3.5.2. Protocole expérimental

Une solution mère de l'extrait a été préparée à une concentration de 400 mg/mL, en la dissolvant dans de l'eau distillée stérile.

Trois types de témoins ont été inclus dans l'essai :

Le puits n°1 a été utilisé comme témoin négatif, contenant uniquement 100 µL de bouillon Mueller-Hinton, sans ajout d'extrait ni d'inoculum bactérien. Ce puits sert à vérifier l'absence de contamination du milieu de culture.

Le puits n°2 a servi de deuxième témoin négatif, contenant 50 µL de bouillon Mueller-Hinton et 50 µL de la solution d'extrait (sans bactérie), afin de s'assurer que l'extrait n'est ni contaminé, ni susceptible d'interférer avec la lecture (précipitation, turbidité, etc.).

Le puits n°12 a été utilisé comme témoin de croissance, contenant 50 µL de bouillon Mueller-Hinton et 50 µL d'inoculum bactérien, sans ajout d'extrait. Il permet de vérifier la capacité de croissance normale de la souche bactérienne en l'absence de traitement.

Les puits n°3 à n°11 ont reçu chacun 50 µL de bouillon Mueller-Hinton, auxquels ont été ajoutés 50 µL de l'extrait selon un protocole de dilution en série. Une dilution binaire (1/2) a été réalisée en transférant 50 µL de chaque puits vers le suivant, jusqu'au puits n°11, le surplus de 50 µL étant éliminé après le dernier transfert.

Un inoculum bactérien, ajusté à 0,5 McFarland, a été préparé à partir de cultures fraîches. Un volume de 50 µL de cet inoculum a été ajouté dans tous les puits, sauf dans les puits témoins n°1 (stérilité) et n°2 (extrait seul). Cette méthode permet d'obtenir une gamme de concentrations décroissantes, allant de 100 mg/mL jusqu'à 0,4 mg/mL, avec un facteur de dilution de 1/2 à chaque étape.

Cette méthode de microdilution en milieu liquide, largement utilisée pour évaluer la concentration minimale inhibitrice (CMI), est conforme aux recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2021).

3.5.3. Incubation et lecture des résultats

Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, l'observation visuelle de la turbidité a permis d'identifier la concentration minimale pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est détectée. Cette concentration correspond à la CMI.

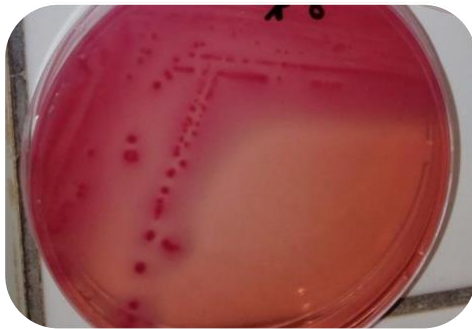
Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Bactéries étudiées

□ Souches pathogènes

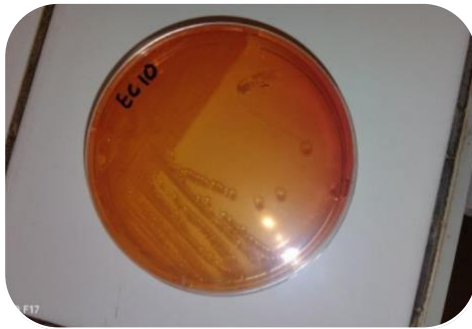
Figure 12 montre les cultures pures obtenues après la réactivation des souches bactériennes pathogènes. Les colonies bien isolées et homogènes confirment la viabilité et la pureté des souches, conditions indispensables pour les tests microbiologiques ultérieurs.



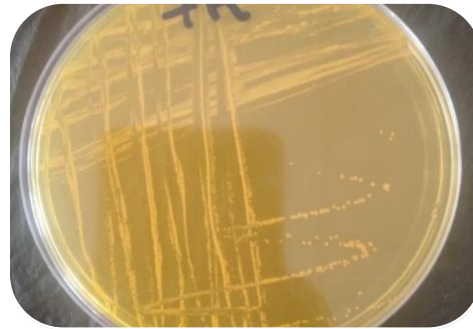
Enterobacter cloacae E8



Klebsiella pneumoniae KP1



Escherichia coli EC10

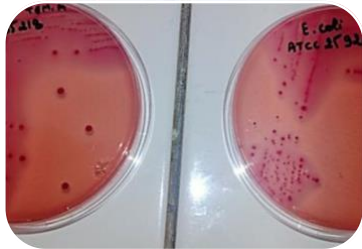


Staphylococcus 7R

Figure 12 : Cultures pures de souches bactériennes hospitalières après réactivation

➤ Souche de référence

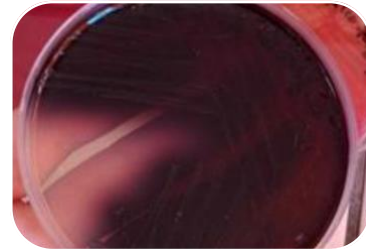
Figure 13 montre les cultures pures obtenues après la réactivation des souches bactériennes de référence. Les colonies bien isolées et homogènes confirment la viabilité et la pureté des souches, conditions indispensables pour les tests microbiologiques ultérieurs.



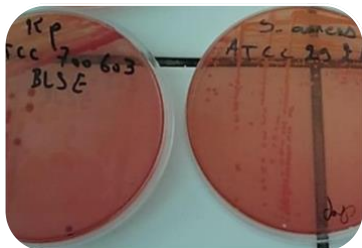
Escherichia coli TEM
ATCC 35218



Escherichia coli ATCC
25922



Enterococcus faecalis
ATCC 29212



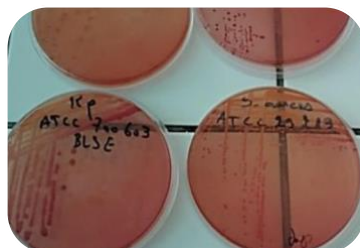
Staphylococcus aureus
résistant (SARM) ATCC
12493



Klebsiella pneumoniae
BLSE ATCC 700603



Pseudomonas
aeruginosa ATCC 27853



Staphylococcus aureus
ATCC 29213

Figure 13 : Cultures pures de souches bactériennes de référence

1.2. Couleur et aspect des extraits

Les extraits de *Ballota hirsuta* présentent des couleurs et des aspects variés en fonction de la nature du solvant utilisé (tableau 4). Les solvants polaires comme l'eau, l'éthanol et le méthanol ont donné des extraits pâteux de couleur marron ou verte, témoignant d'une richesse en composés hydrophiles (polyphénols, flavonoïdes, tanins). En revanche, les solvants moins polaires ou apolaires tels que l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le chloroforme ont permis l'obtention d'extraits huileux, avec des teintes allant du jaune au vert, indiquant une extraction majoritaire de composés lipophiles comme les terpènes, les huiles essentielles et certains pigments.

Tableau 4 : Couleur et aspect des extraits selon le solvant d'extraction utilisé

Extrait	Couleur	Aspect
Aqueux	Marron	Pâteux
Ethanolique	Vert	Pâteux
Méthanolique	Marron	Pâteux
Hexane	Jaune	Huileux
Dichlorométhane	Jaune	Huileux
Acétate d'éthyle	Vert	Huileux
Chloroforme	Vert	Huileux

1.3. Rendement

Les rendements d'extraction ont été déterminés pour différents solvants, avant et après le processus de délipidation, afin d'évaluer l'effet de ce traitement sur l'efficacité de l'extraction. Les résultats obtenus permettent de comparer la quantité d'extrait sec récupérée selon le type de solvant utilisé et l'état de la matière végétale (brute ou délipidée). Les valeurs exprimées en pourcentage sont présentées dans les tableaux 5 et 6.

Tableau 5 : Rendements d'extraction (%) obtenus avec différents solvants avant délipidation de la plante.

Solvant	Méch (g)	Mext (g)	R(%)
Hexane	20	0,98	4,9
Chloroforme	20	0,253	1,265
Dichlorométhane	20	0,53	2,65
Acétate d'éthyle	20	0,247	1,235
Méthanol	20	0.5	2.5
Ethanol	20	0,865	4,325
Aqueux	20	1,163	5,815

Ce tableau montre les rendements obtenus à partir de 20 g de matière végétale, le rendement d'extraction varie de 1,235 % à 5,815 %. L'extrait aqueux présente le rendement le plus élevé, suivi de l'hexane et de l'éthanol. Les plus faibles rendements sont observés avec le chloroforme et l'acétate d'éthyle.

Tableau 6 : Rendements d'extraction (%) obtenus avec différents solvants après délipidation de la plante

Solvant	Méch (g)	Mext (g)	R(%)
Aqueux	10	0,729	7,29
Méthanol	10	1,08	10,8
Ethanol	10	0,88	8,8
Chloroforme	10	0,02	0,2

Ce tableau montre les rendements obtenus à partir de 10 g de matière végétale délipidée. Le méthanol reste le solvant le plus efficace avec un rendement de 10,8 %, suivi par l'éthanol (8,8 %) et l'eau distillée (7,29 %). Cependant, le chloroforme présente un rendement très faible de 0,2 %, suggérant qu'après délipidation, très peu de composés solubles dans ce solvant subsistent.

1.4. Etude de l'activité antibactérienne

1.4.1. Méthode de diffusion sur disque

Les résultats présentés dans les tableaux (7, 8, 9 et 10) et les figures (14,15,16 et 17) indiquent que l'ensemble des extraits obtenus aux différentes concentrations appliquées (10, 20 et 50 mg/mL), que ce soit avant ou après délipidation, n'ont montré aucune activité antibactérienne vis-à-vis des souches cliniques et des souches de références testées.

Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques avant délipidation vis-à-vis des souches cliniques.

Bactéries	Les dilutions (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			Témoin (mm)
		Aqueux	Ethanol	Méthanol	Pénicilline G Méropénème *
<i>Staphylococcus 7R</i>	10	6	6	6	8
	20	6	6	6	8
	50	6	6	6	8
<i>Acinetobacter baumannii A8</i>	10	6	6	6	7
	20	6	6	6	7
	50	6	6	6	7
<i>Enterobacter cloacae E8</i>	10	6	6	6	18*
	20	6	6	6	18*
	50	6	6	6	18*
<i>Escherichia coli EC10</i>	10	6	6	6	13*
	20	6	6	6	13*
	50	6	6	6	13*
<i>Providencia stuartii PSTU2</i>	10	6	6	6	25*
	20	6	6	6	25*
	50	6	6	6	25*
<i>Klebsiella pneumoniae KPI</i>	10	6	7	6	17*
	20	6	6	6	17*
	50	6	6	6	17*

Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques avant délipidation, vis-à-vis des souches de référence

Bactéries	Les dilutions (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			Témoin (mm)
		Aqueux	Ethanol	Méthanol	Pénicilline G Méropénémé *
<i>Escherichia coli</i> TEM ATCC 35218	10	6	6	6	6*
	20	6	6	6	6*
	50	6	6	6	6*
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10	6	6	6	6*
	20	6	6	6	6*
	50	6	6	6	6*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10	6	6	6	6*
	20	6	6	6	6*
	50	6	6	6	6*
<i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE ATCC 700603	10	6	6	6	6*
	20	6	6	6	6*
	50	6	6	6	6*
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	10	6	6	6	23
	20	6	6	6	23
	50	6	6	6	23
Staphylococcus aureus résistant (SARM) ATCC 12493	10	6	7	6	6
	20	6	6	6	6
	50	6	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10	6	6	6	25
	20	6	6	6	25
	50	6	6	6	25

Tableau 9 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques après délipidation vis-à-vis des souches cliniques.

Bactéries	Les dilutions (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			Temoin(mm) Pénicilline G Méropénème *
		Aqueux	Ethanol	Méthanol	
<i>Staphylococcus 7R</i>	10	6	6	6	8
	20	6	6	6	8
	50	6	6	6	8
<i>Acinetobacter baumannii A8</i>	10	6	6	6	7
	20	6	6	6	7
	50	6	6	6	7
<i>Enterobacter cloacae E8</i>	10	6	6	6	18*
	20	6	6	6	18*
	50	6	6	6	18*
<i>Escherichia coli EC10</i>	10	6	6	6	13*
	20	6	6	6	13*
	50	6	6	6	13*
<i>Providencia stuartii PSTU2</i>	10	6	6	6	25*
	20	6	6	6	25*
	50	6	6	6	25*
<i>Klebsiella pneumoniae KPI</i>	10	6	7	6	17*
	20	6	6	6	17*
	50	6	6	6	17*

Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques après délipidation, vis-à-vis des souches de référence.

Bactéries	Les dilutions (mg/ml)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			Témoin (mm)
		Aqueux	Ethanol	Méthanol	Pénicilline G Méropénémé *
<i>Escherichia coli</i> <i>TEM ATCC 35218</i>	10	6	6	6	6*
	20	6	6	6	6*
	50	6	6	6	6*
<i>Escherichia coli</i> <i>ATCC 25922</i>	10	6	6	6	6*
	20	6	6	6	6*
	50	6	6	6	6*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10	6	6	6	6*
	20	6	6	6	6*
	50	6	6	6	6*
<i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE <i>ATCC 700603</i>	10	6	6	6	6*
	20	6	6	6	6*
	50	6	6	6	6*
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	10	6	6	6	23
	20	6	6	6	23
	50	6	6	6	23
Staphylococcus aureus résistant (SARM) ATCC 12493	10	6	7	6	6
	20	6	6	6	6
	50	6	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i> <i>ATCC 29212</i>	10	6	6	6	25
	20	6	6	6	25
	50	6	6	6	25

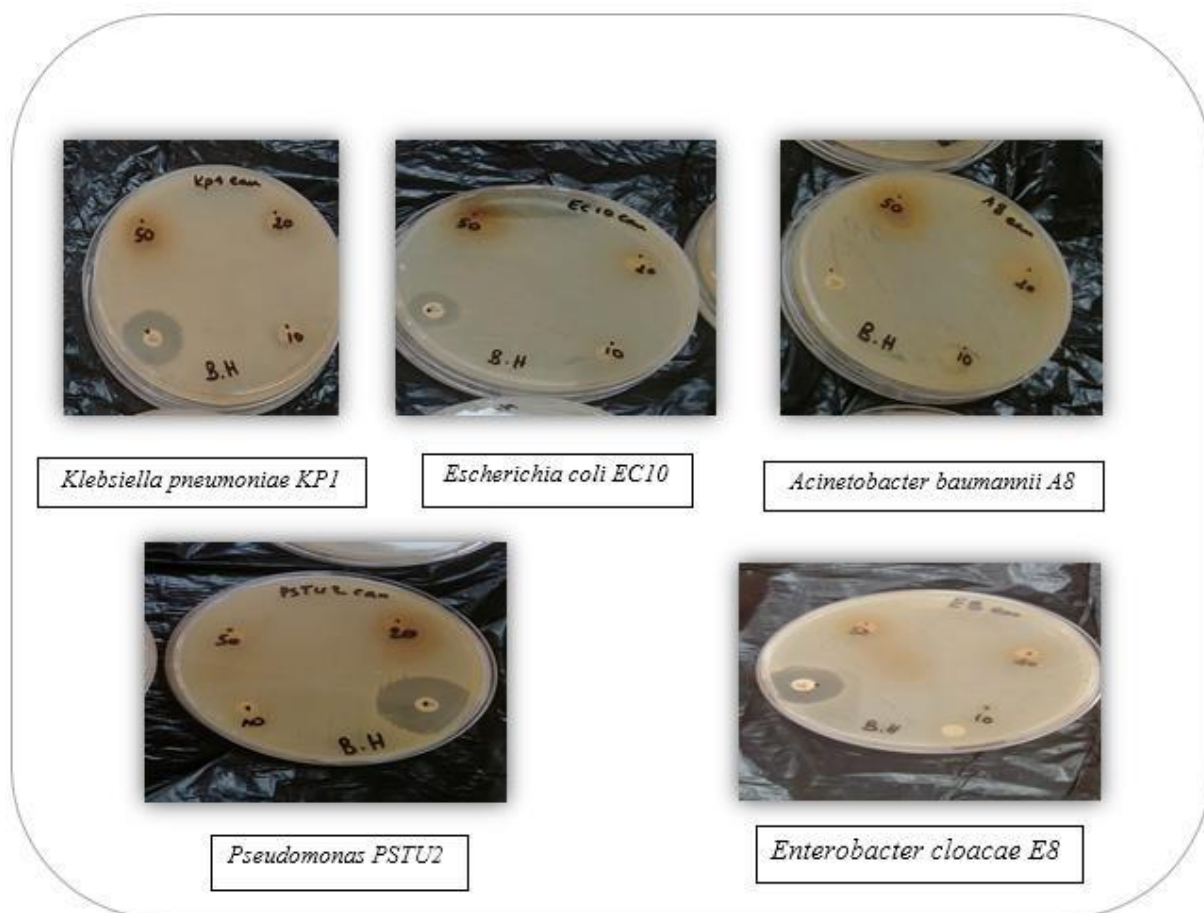


Figure 14 : Résultats des tests antibactériens des souches clinique avec l'extrait éthanolique et l'antibiotique

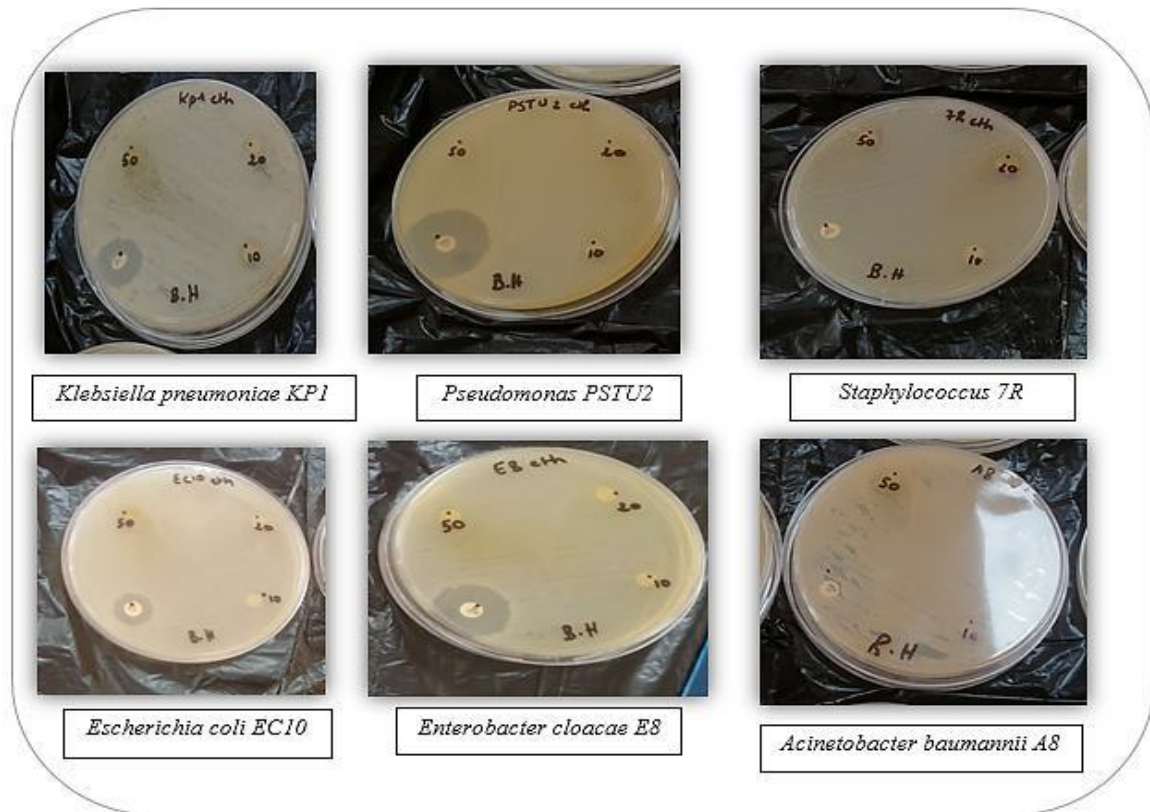


Figure 15 : Résultats des tests antibactériens des souches cliniques avec l'extrait aqueux et l'antibiotique

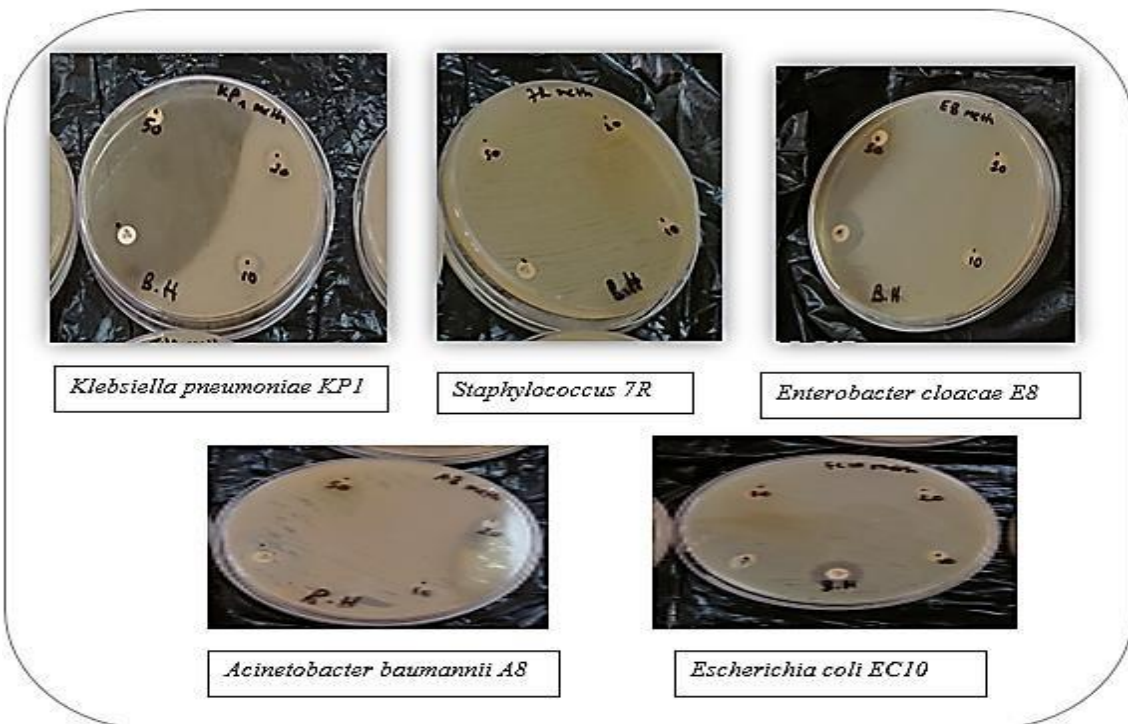


Figure 16 : Résultats des tests antibactériens des souches cliniques avec l'extrait méthanolique et l'antibiotique

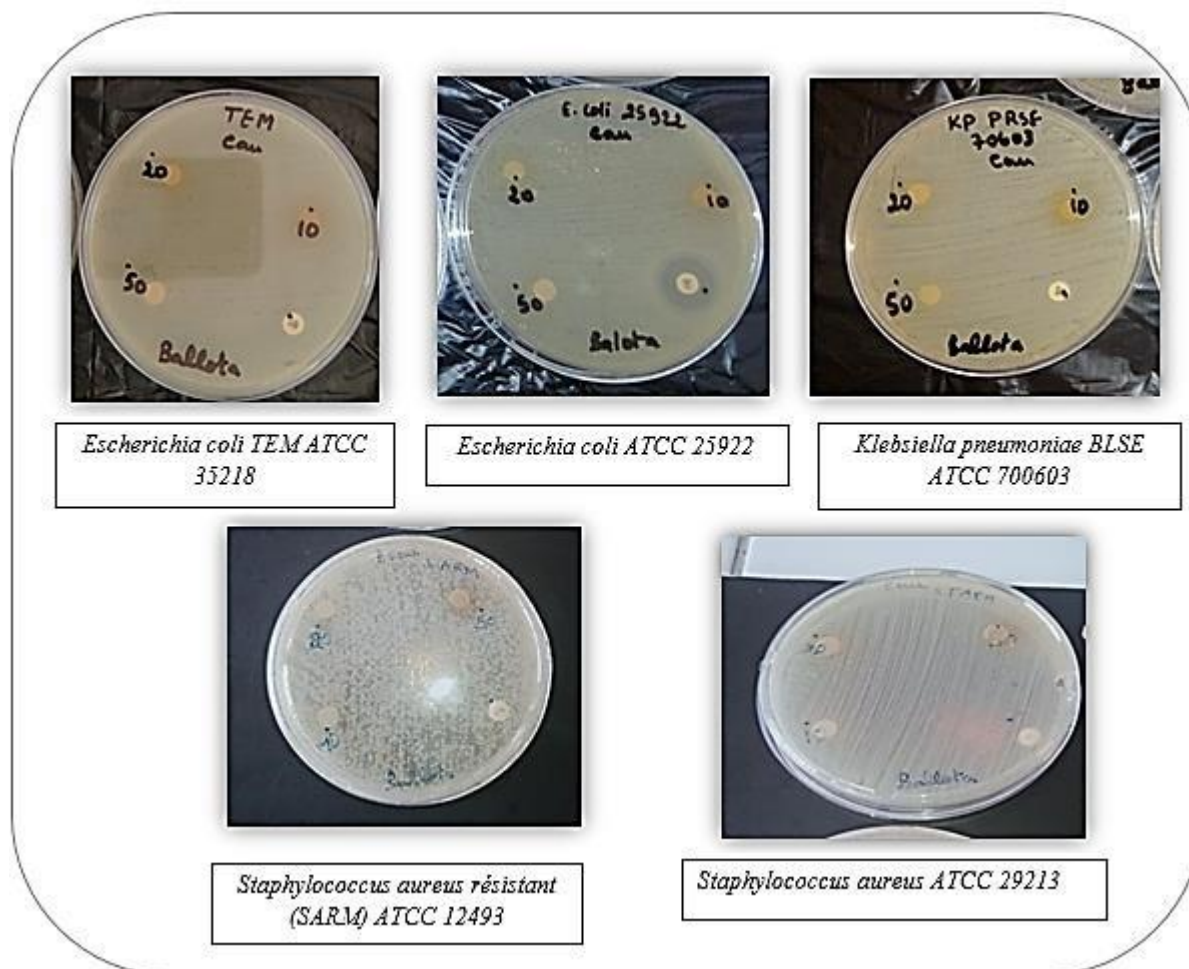


Figure 17 : Résultats des tests antibactériens des souches de référence avec l'extrait aqueux et l'antibiotique

1.4.2. La concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les résultats présentés dans le tableau 11 et 12 et les figure 18 et 19 indiquent que l'ensemble des extraits obtenus, qu'ils soient bruts ou délipidés, présentent une concentration minimale inhibitrice (CMI) supérieure à 100 mg/mL vis-à-vis des souches de référence et des souches hospitalières testées.

Tableau 11 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de *Ballota hirsuta* vis-à-vis des souches de référence, avant et après délipidation

Souches	CMI Avant délipidation			CMI Après délipidation		
	Aqueux	Éthanol	Méthanol	Aqueux	Éthanol	Méthanol
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli</i> TEM ATCC 35218	>100	>100	>200	>100	>100	>100
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 27853	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> BLSE ATCC 700603	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC 29213	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Staphylococcus aureus résistant (SARM) ATCC 12493	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> ATCC 29212	>100	>100	>100	>100	>100	>100

Tableau 12 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de *Ballota hirsuta* vis-à-vis des souches pathogènes cliniques, avant et après délipidation

Souches	CMI Avant délipidation			CMI Après délipidation		
	Aqueux	Éthanol	Méthanol	Aqueux	Éthanol	Méthanol
<i>Staphylococcus 7R</i>	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Acinetobacter baumannii A8</i>	>100	>100	>200	>100	>100	>100
<i>Enterobacter cloacae E8</i>	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Escherichia coli EC10</i>	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Providencia stuartii PSTU2</i>	>100	>100	>100	>100	>100	>100
<i>Klebsiella pneumoniae KP1</i>	>100	>100	>100	>100	>100	>100



Figure 18 : Résultats des CMI des extraits de *Ballota hirsuta* avant délipidation



Figure 19 : Résultats des CMI des extraits de *Ballota hirsuta* après délipidation

2. Discussion

L'étude présente, portant sur l'activité antibactérienne de *Ballota hirsuta*, s'inscrit dans une dynamique de valorisation des plantes médicinales en tant qu'alternative potentielle à l'antibiorésistance croissante. Le travail a porté sur des extraits issus des feuilles de *Ballota hirsuta*, collectées dans la région de Nedroma (Tlemcen), avec des extractions réalisées avant et après délipidation. L'analyse des rendements d'extraction montre que, globalement, les solvants polaires ont permis de meilleurs rendements. Avant délipidation, l'extrait aqueux affichait le rendement le plus élevé (5,815 %), suivi de l'extrait éthanolique (4,325 %) et de l'extrait méthanolique (2,5 %), tandis que les extraits à base de dichlorométhane (2,65 %), acétate d'éthyle (1,235 %), et particulièrement le chloroforme (1,265 %) donnaient des rendements faibles. Après délipidation, les rendements ont nettement augmenté, atteignant 10,8 % pour le méthanol, 8,8 % pour l'éthanol et 7,29 % pour l'eau, en raison de l'élimination préalable des composés lipophiles qui a pu faciliter l'extraction des métabolites hydrosolubles. Toutefois, l'extraction à l'acétate d'éthyle, au dichlorométhane et au chloroforme avant délipidation n'a pas été suivie de tests microbiologiques, en raison du faible rendement et de l'aspect huileux et collant des extraits obtenus, qui les rendaient difficiles à manipuler et non compatibles avec une évaluation standardisée.

Concernant l'activité antibactérienne, les tests ont été réalisés à la fois sur des souches de référence (*Escherichia coli* TEM ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* BLSE ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* résistant (SARM) ATCC 12493 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) et des souches cliniques multirésistantes isolées de milieu hospitalier, telle que *Staphylococcus* 7R, *Acinetobacter baumannii* A8, *Enterobacter cloacae* E8, *Escherichia coli* EC10, *Providencia stuartii* PSTU2 et *Klebsiella pneumoniae* KP1. Aucun des extraits testés n'a montré d'activité inhibitrice notable, que ce soit sur gélose (zones d'inhibition constantes à 6 mm, équivalentes au diamètre du disque) ou en milieu liquide (CMI > 100 mg/mL). Même à des concentrations intermédiaires (10, 20 et 50 mg/mL), aucun effet antibactérien n'a été détecté, ce qui suggère que seule une concentration plus élevée pourrait éventuellement révéler une faible activité résiduelle, hypothèse qui nécessiterait des investigations supplémentaires.

Ces résultats contrastent fortement avec ceux rapportés par Kechar, dont la thèse doctorale menée à Constantine a mis en évidence une activité antimicrobienne modérée des extraits éthanolique et méthanolique de *B. hirsuta* contre des souches de référence comme *S. aureus* ATCC 25923 et *E. coli* ATCC 25922, avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 13 mm et des CMI comprises entre 12,5 et 50 mg/mL (Kechar, 2016). Cette divergence pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs. Premièrement, les souches utilisées par Kechar étaient exclusivement des souches de référence, tandis que notre étude a inclus un large spectre de souches cliniques multirésistantes, qui possèdent des mécanismes de défense puissants. Deuxièmement, la méthode d'extraction diffère : notre étude s'est basée sur une macération simple sans fractionnement, alors que Kechar a utilisé des techniques de fractionnement par chromatographie, qui permettent d'isoler et de concentrer les composés bioactifs. Troisièmement, la concentration utilisée dans notre étude (10, 20, 50 mg/mL) était inférieure aux seuils d'activité rapportés par Kechar, ce qui pourrait expliquer l'absence d'effet.

En outre, les différences pédoclimatiques et phénologiques entre les zones de récolte peuvent influencer la composition en métabolites secondaires : Kechar a collecté la plante au printemps dans une zone steppique du nord-est algérien, alors que notre échantillonnage a eu lieu dans une région plus humide de l'ouest algérien (Nedroma), ce qui peut affecter la biosynthèse des flavonoïdes, acides phénoliques, et labdanes

diterpéniques impliqués dans l'activité biologique (Reichling *et al.*, 2009 ; El Gendy *et al.*, 2015).

Des recherches antérieures sur d'autres espèces du genre *Ballota* comme *B. nigra* ou *B. undulata* ont montré une efficacité antibactérienne plus marquée, notamment lorsqu'elles sont testées sous forme d'huiles essentielles ou de fractions purifiées, en particulier contre les bactéries Gram-positives (Bahramikia *et al.*, 2012 ; Gendy *et al.* 2015). Ceci suggère que la complexité chimique des extraits bruts peut masquer l'activité des composés actifs, nécessitant des méthodes de séparation plus ciblées. D'autres études (Alipour *et al.*, 2017) sur *Ballota undulata* ont montré que seules certaines fractions (notamment lipophiles) présentaient une activité, ce qui met en évidence l'importance du fractionnement et de la purification.

Par ailleurs, bien que les tests sur gélose et en milieu liquide puissent parfois montrer des divergences dues à la diffusion variable des composés dans l'agar, les deux méthodes ont ici donné des résultats concordants, renforçant la fiabilité des données obtenues. Il est aussi utile de mentionner que les rendements d'extraction élevés, notamment après délipidation, n'ont pas systématiquement été associés à une activité biologique, soulignant la nécessité de cibler les composés actifs par des méthodes chromatographiques ou de bio-guidage. Enfin, la structure des parois bactériennes, en particulier chez les Gram-négatives multirésistantes, constitue une barrière supplémentaire à l'efficacité des composés naturels (Nikaido, 2003). Il serait pertinent à l'avenir d'intégrer une étape de fractionnement bio-guidé pour maximiser les chances d'identifier des composés actifs.

De plus, plusieurs auteurs ont souligné que certains composés bioactifs de *B. hirsuta*, comme les labdanes diterpéniques et les flavonoïdes, peuvent être présents en faible concentration dans les extraits bruts, nécessitant une concentration ou purification préalable (Benbott *et al.*, 2012). Par conséquent, il serait intéressant de poursuivre ces investigations par des analyses chromatographiques (HPLC, GC-MS) et des tests bio-guidés afin d'isoler les fractions actives responsables d'effets antimicrobiens. Enfin, l'association de ces extraits avec des antibiotiques pourrait révéler un effet synergique, comme rapporté pour d'autres plantes médicinales (Hemaiswarya *et al.* 2008), ouvrant ainsi des perspectives prometteuses dans le traitement des infections à germes multi résistants.

Conclusion

Face à l'émergence croissante des infections causées par des bactéries multi résistantes, la recherche de nouvelles sources d'agents antimicrobiens est devenue une priorité de santé publique. Les plantes médicinales, riches en métabolites secondaires bioactifs, représentent une alternative prometteuse. Dans ce cadre, la présente étude s'est intéressée à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de *Ballota hirsuta*, une espèce appartenant à la famille des Lamiacées et traditionnellement utilisée pour ses vertus thérapeutiques.

L'analyse des extraits issus des feuilles de *Ballota hirsuta*, obtenus par macération avant et après délipidation avec divers solvants, a permis d'observer des rendements variables en fonction de la polarité des solvants. Les meilleurs rendements après délipidation ont été obtenus avec le méthanol (10,8 %), suivi de l'éthanol (8,8 %) et de l'eau (7,29 %). En revanche, les extraits au chloroforme ont montré un rendement très faible (0,2 %), ce qui justifie leur exclusion des tests antimicrobiens post-délipidation. De même, les extraits d'acétate d'éthyle, de dichlorométhane et de chloroforme n'ont pas été testés avant délipidation en raison de leur faible rendement et de leur aspect huileux peu propice aux tests biologiques.

Malgré cette diversité d'extraits, aucune activité antimicrobienne significative n'a été détectée ni par la méthode de diffusion sur gélose (zones d'inhibition de 6 mm, correspondant au diamètre des disques) ni par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI > 100 mg/ml). Aucune inhibition de la croissance n'a été observée non plus à des concentrations de 10, 20 et 50 mg/ml. Ces tests ont été menés à la fois sur des souches de référence (*Escherichia coli* TEM ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* BLSE ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* résistant (SARM) ATCC 12493 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) et sur des souches cliniques multi résistantes isolées de milieux hospitaliers, notamment *Staphylococcus 7R*, *Acinetobacter baumannii* A8, *Enterobacter cloacae* E8, *Escherichia coli* EC10, *Providencia stuartii* PSTU2 et *Klebsiella pneumoniae* KPI. L'absence d'effet inhibiteur, confirmée par les deux méthodes utilisées, suggère soit une concentration insuffisante des principes actifs, soit une faible affinité de ces composés vis-à-vis des cibles bactériennes testées.

Plusieurs obstacles méthodologiques ont également limité l'exploration plus approfondie de cette activité. En particulier, le manque de ressources a empêché l'utilisation de certains solvants organiques (acétate d'éthyle, dichlorométhane, chloroforme) pour les extractions post-délipidation, ainsi que l'adoption de techniques avancées de fractionnement et d'isolement des composés bioactifs. Par ailleurs, les extraits testés sont restés sous forme brute, sans enrichissement ni purification, ce qui peut masquer l'effet potentiel de molécules actives en

faible concentration. Malgré les résultats négatifs observés, cette étude offre des perspectives intéressantes. Il serait pertinent, dans le futur, d'avoir recours à des techniques de séparation chromatographique (comme la chromatographie sur colonne ou HPLC) afin d'isoler et concentrer les principes actifs. L'utilisation d'extraits enrichis ou de fractions purifiées pourrait permettre de mieux explorer le potentiel antimicrobien de cette espèce. De même, tester l'activité des huiles essentielles de *Ballota hirsuta*, comme cela a été fait avec d'autres espèces du genre (*Ballota nigra*, *Ballota undulata*) ayant montré une activité significative contre des bactéries Gram-positives (Bahramikia *et al.*, 2012 ; Gendy *et al.*, 2015), constituerait une piste intéressante. Il serait également judicieux de cibler d'autres types de micro-organismes, notamment des champignons pathogènes, généralement plus sensibles aux extraits végétaux, tout en augmentant les concentrations testées pour dépasser les seuils d'activité potentielle.

Enfin, cette étude met en lumière la rareté des travaux scientifiques spécifiques sur l'activité antimicrobienne de *Ballota hirsuta*, contrairement à d'autres espèces du même genre. Cela souligne la nécessité de développer davantage de recherches standardisées sur cette plante afin d'en valoriser les propriétés pharmacologiques.

Références bibliographiques

- Abreu, A. C., McBain, A. J., & Simoes, M. (2012). *Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents*. **Natural Product Reports**, **29**(9), 1007–1021. <https://doi.org/10.1039/C2NP20035J>
- Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (4th ed.). Allured Publishing Corporation.
- Albert, A. (2005). Sélection de composés bioactifs naturels contre des champignons phytopathogènes. Université de Toulouse.
- Alipour, G., Dashti, S., & Hosseinzadeh, H. (2017). Review of pharmacological effects of *Ballota* species. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **20**(5), 465–475.
- American Type Culture Collection. (2023). *ATCC® Catalog of Microorganisms*. <https://www.atcc.org>
- Atlas, R. M. (2010). *Handbook of Microbiological Media* (4th ed.). CRC Press.
- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, **4**(3), 196. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Bahramikia, S., & Yazdanparast, R. (2012). Antioxidant and free radical scavenging activities of different fractions of *Ballota nigra*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **63**(4), 392–396. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.637489>
- Bahramikia, S., & Yazdanparast, R. (2012). Phytochemistry and medicinal properties of *Ballota nigra* L. and its potential use as a phytotherapeutic agent. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **15**(1), 7–16.
- Ballesta, A., González-Coloma, A., Sanz, J., & Andrés, M. F. (2007). Insect antifeedant activity of diterpenes from *Ballota hirsuta* and related labdanes. *Journal of Chemical Ecology*, **33**(2), 303–312. <https://doi.org/10.1007/s10886-006-9217-3>
- Bammi, N., & Douira, A. (2004). *Étude écologique de Ballota hirsuta en Algérie*.
- Barros, L., Dueñas, M., Pinela, J., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2011). Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from northeastern Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, **49**(7), 1842–1849. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.04.010>
- Benbott, A., Yahia, A., & Boucherit-Otmani, Z. (2012). Activité antibactérienne et antioxydante d'extraits de plantes médicinales. *Revue des Sciences de la Vie*, **2**(1), 33-39.
- Benhouhou, S., Gherib, M., & Bouzidi, A. (2019). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne de quelques plantes médicinales spontanées du sud algérien.

□

Journal Algérien des Régions Arides, 16(1), 45–52.

- Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 42–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
- Bouzidi, A., et al. (2019). Influence des paramètres d'extraction sur la composition phénolique du *Thymus vulgaris*. *Phytothérapie*, 17(6), 323–329.
- Bussmann, R. W., Elachouri, M., & Kikvidze, Z. (2021). *Ethnobotany of Northern Africa and Levant* (p. 503). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-572233>
- Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Elaoufi, M. M., & Benmansour, D. (2016). Phytochemical screening and antioxidant activity of some Algerian medicinal plants. *Journal of Coastal Life Medicine*, 4(5), 365–370. <https://doi.org/10.12980/jclm.4.2016J5-253>
- Cappuccino, J. G., & Welsh, C. (2017). *Microbiology: A Laboratory Manual* (11th ed.). Pearson Education.
- Cassini, A., Högberg, L. D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G. S., ... & Monnet, D. L. (2019). Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, 19(1), 56–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30605-4)
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2019). *Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019*. U.S. Department of Health and Human Services. <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>
- Çitoğlu, G. S., Acık, L., & Sever, B. (1998). Antimicrobial activities of some *Ballota* species. *Fitoterapia*, 69(5), 473–475.
- Citoglu, G. S., Acık, L., & Yilmaz, B. S. (1998). *A study on the genus Ballota in Turkey*.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (30th ed., CLSI supplement M100). CLSI.
- Cowan, M. M. (1999). *Plant products as antimicrobial agents*. **Clinical Microbiology Reviews**, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), 417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>

- Djeussi, D. E., Noumedem, J. A. K., Seukep, J. A., Fankam, A. G., Voukeng, I. K., Tankeo, S. B., ... & Kuete, V. (2013). Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 164. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-164>
 - Dorman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., & Tikkanen, M. J. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83(2), 255–262. [https://doi.org/10.1016/S03088146\(03\)00098-2](https://doi.org/10.1016/S03088146(03)00098-2)
 - El Gendy, A. N. G., El-Kadi, A. A., & Abd El-Wahab, A. E. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Ballota undulata* (Sieber ex Fresen.) Benth. *Natural Product Research*, 29(4), 378–381. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.952773>
 - El Gendy, A. N. G., El-Kadi, A. A., Abdel-Lateff, A., & Shalaby, E. A. (2015). GC-MS analysis and antimicrobial activity of essential oils from *Ballota undulata* (Sieber) Benth. *Pharmacognosy Journal*, 7(3), 173–176. <https://doi.org/10.5530/pj.2015.3.2>
 - Eloff, J. N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethnopharmacology*, 60(1), 1–8. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00123-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00123-2)
 - EUCAST. (2023). *Routine and extended internal quality control for antimicrobial susceptibility testing using disk diffusion or broth microdilution*. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Retrieved from <https://www.eucast.org>
 - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2023). *Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST (Version 13.0)*. Retrieved from <https://www.eucast.org>
 - Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). *Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. Perspectives in Medicinal Chemistry*, 6, 25–64. <https://doi.org/10.4137/PMC.S14459>
 - Ferreres F, Tomas-Barberana FA, Tomas-Lorente F (1986) Flavonoid compound from *Ballota hirsuta*. *J Nat Prod* 49 (3): 554–5
 - Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* (12th ed.). Mosby Elsevier.
 - Gendy, A. E., Abdou, R. H., & El-Wahab, A. E. A. (2015). Antimicrobial activity and chemical constituents of *Ballota undulata* essential oil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(12), 980–984.
- Gertsch, J., Leonti, M., Raduner, S., Racz, I., Chen, J. Z., Xie, X. Q., ... & Zimmer, A.

□

- (2008). Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(26), 9099–9104. <https://doi.org/10.1073/pnas.0803601105>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Springer.
 - Hemaiswarya, S., Kruthiventi, A. K., & Doble, M. (2008). Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, 15(8), 639-652.
 - Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8–10), 603–608. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X)
 - Juergens, U. R. (2014). Anti-inflammatory properties of the monoterpene 1,8-cineole: Current evidence for co-medication in inflammatory airway diseases. *Drug Research*, 64(12), 638–646. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1382048>
 - Karioti, A., Vrontira, I., Skaltsa, H., & Heilmann, J. (2007). Phenylethanoid glycosides from *Ballota pseudodictamnus* and their antioxidant activity. *Phytochemistry Letters*, 1(1), 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2007.08.001>
 - Kechar, K., & Hellal, B. (2017). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth. du Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15, 217–221. <https://doi.org/10.1007/s10298-016-1066-z>
 - **Kechar, K., & Hellal, B. (2021).** La Ballote hirsute (*Ballota hirsuta* Benth., Lamiacées) : description morphologique et intérêts phytothérapeutiques. *Phytothérapie*, 19(6), 341–347.
 - Kechar, K., Hellal, B., Ayad, N., & Benahmed-Djilali, A. (2016). Enquête ethnobotanique sur la *Ballota hirsuta* Benth à Sidi Bel Abbès (Algérie). *Phytothérapie*, 14, 343–348. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0972-9>
 - Kechar, N. (2016). *Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de quelques plantes médicinales de la famille des Lamiaceae* [Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri Constantine 1].
 - Lahbabi, A., et al. (2024). *Ballota hirsuta* essential oil as a potential multitarget agent against *Leishmania*: In vitro and in silico study. *Pharmaceutical Biology*, 62(1), 123–134. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39215892>
 - Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms* (15th ed.). Pearson.

□

- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., et al. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., ... & Nabavi, S. M. (2016). Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chemistry*, 210, 402–414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.122>
 - Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules*, 15(12), 9252–9287. <https://doi.org/10.3390/molecules15129252>
 - Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
 - Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2021). *Medical Microbiology* (10e éd.). Elsevier.
 - Nabavi, S. F., Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., & Mirzaei, M. (2015). Biological activities of caffeic acid and its derivatives: a review. *Phytotherapy Research*, 29(10), 1557–1567. <https://doi.org/10.1002/ptr.5402>
 - **ngiosperm Phylogeny Group (APG). (2003).** *An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II*. Botanical Journal of the Linnean Society, 141(4), 399-436. <https://doi.org/10.1046/j.10958339.2003.t01-1-00158.x>
 - Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593–656.
 - Nostro, A., & Papalia, T. (2012). *Antimicrobial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria*. **Microbial Pathogenesis**, 52(2), 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2011.10.006>
 - O’Driscoll, T., & Crank, C. W. (2015). Vancomycin-resistant enterococcal infections: Epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infection and Drug Resistance*, 8, 217–230. <https://doi.org/10.2147/IDR.S54125>
 - Ou, S., & Kwok, K. C. (2004). Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(11), 1261–

□

1269. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1827>

Petersen, M., & Simmonds, M. S. J. (2003). Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62(2), 121–125. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00564-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00564-9)

- Poole, K. (2005). Efflux-mediated antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(1), 20–51. <https://doi.org/10.1093/jac/dki171>
- Poole, K. (2005). Efflux-mediated antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(1), 20–51. <https://doi.org/10.1093/jac/dki171>
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). *Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon*. **Pathogens and Global Health**, 109(7), 309–318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.00000000030>
- Quézel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (Tome II, pp. 19–23). Paris : Centre National de la Recherche Scientifique.
- Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U., & Saller, R. (2009). Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties—an overview. *Forschende Komplementärmedizin*, 16(2), 79–90. <https://doi.org/10.1159/000207196>
- Righi, N., Bachir Gater, B., & Silva, B. A. (2013). Herbal remedies and their possible effect on kidney function: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(48), 3489–3497. <https://doi.org/10.5897/JMPR2013.5175>
- Seidel, V., Bailleul, F., & Tissier, A. (1999). *Biological and chemical investigations on Ballota species*.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Sofowora, A. (1993). *Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa* (2nd ed.). Spectrum Books Ltd.
- Sökmen, A., Güllüce, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., & Şahin, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of *Ballota hirsuta* and *Ballota nigra* subsp. *anatolica*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(3), 319–326. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1656>
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2020). *Microbiology: An Introduction* (13th ed.). Pearson.

- Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M., & Webb, D. A. (1972). *Flora Europaea* (Vol. 3). Cambridge: Cambridge University Press.
- Ultee, A., Bennik, M. H. J., & Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1561–1568. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002>
- Ventola, C. L. (2015). *The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats*. **Pharmacy and Therapeutics**, 40(4), 277–283. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>
- Ventola, C. L. (2015). *The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats*.
- Wikimedia Commons. (n.d.). *Caffeic acid* [Image]. Wikimedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Caffeic_acid.svg
- Wikimedia Commons. (n.d.). *Ferulic acid* [Image]. Wikimedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ferulic_acid.svg
- Wikimedia Commons. (n.d.). *Gallic acid* [Image]. Wikimedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gallic_acid.svg
- Wikimedia Commons. (n.d.). *Rosmarinic acid* [Image]. Wikimedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Rosmarinic_acid.png
- World Health Organization (WHO). (2017). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-EMP-IAU-2017.12>
- Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A. A., Algur, O. F., & Bilaloglu, V. (2001). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of *Tilia* (*Linden*), *Salvia*, and *Ballota* species. *Pharmaceutical Biology*, 39(4), 340–345. <https://doi.org/10.1076/phbi.39.4.340.5935>
- Zengin, G., Aktumsek, A., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., & Yildiztugay, E. (2013). Antioxidant properties and phenolic composition of *Ballota hirsuta* and *Salvia verbenaca*: Comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 485–492. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.043>

Annexe

Annexe : Préparation des dilutions des extraits de plante pour la méthode de diffusion sur disque

1. Préparation de la solution mère (50 mg/mL)

La solution mère a été obtenue en dissolvant 200 mg d'extrait sec dans 4 mL d'eau distillée stérile. La concentration est calculée comme suit : $\text{Concentration} = 200 \text{ mg} / 4 \text{ mL} = 50 \text{ mg/mL}$

2. Préparation de la solution à 20 mg/mL

À partir de la solution mère, 2 mL ont été prélevés, ce qui correspond à : $2 \text{ mL} \times 50 \text{ mg/mL} = 100 \text{ mg}$.

Cette quantité a été diluée dans 3 mL d'eau distillée stérile, donnant un volume final de 5 mL.

La concentration finale est donc : $\text{Concentration} = 100 \text{ mg} / 5 \text{ mL} = 20 \text{ mg/mL}$

3. Préparation de la solution à 10 mg/mL

Pour obtenir cette dilution, 2 mL de la solution à 20 mg/mL ont été prélevés, apportant : $2 \text{ mL} \times 20 \text{ mg/mL} = 40 \text{ mg}$

Après ajout de 2 mL d'eau distillée stérile, le volume total est de 4 mL. La concentration finale obtenue est donc : $\text{Concentration} = 40 \text{ mg} / 4 \text{ mL} = 10 \text{ mg/mL}$

ملخص

يهدف هذا البحث إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات نبتة (*Ballota hirsuta*) من الفصيلة الشفوية، وهي نبتة تستخدم في الطب التقليدي؛ وتعرف محليا باسم "المروقيت"، ضد عزلات بكتيرية متعددة المقاومة تم الحصول عليها من المركز الاستشفائي الجامعي بتلمسان، بالإضافة إلى سلالات مرجعية. تم تحضير المستخلصات من أوراق النبتة، قبل وبعد إزالة الدهون، باستخدام مذيبات قطبية وغير قطبية. وقد أجريت الاختبارات على سبع سلالات بكتيرية مرجعية وست سلالات سريرية متعددة المقاومة، باستخدام طريقتي الانتشار على الوسط الصلب وتحديد التركيز الأدنى المثبط. أظهرت النتائج غياب أي نشاط مضاد للبكتيريا بشكل ملحوظ في جميع المستخلصات المختبرة) مناطق التثبيط = 6 مم؛ $MIC > 100$ ملغ/مل، حتى عند التركيزات المتوسطة (01، 01، 01 ملغ/مل). كما تمت مواجهة بعض القيود مع المستخلصات الدهنية بعد إزالة الدهون، التي لم تُختبر بسبب قوامها الزيتي. تشير هذه النتائج إلى غياب التأثير المضاد للميكروبات في ظل الشروط التجريبية المطبقة. وتُعد الدراسات الإضافية، بما في ذلك التفرقة الحيوية الموجهة وتحليل المركبات النشطة، ضرورة لتقييم الإمكانيات العلاجية لهذه النبتة بشكل أفضل **الكلمات المفتاحية:** *Ballota hirsuta*؛ النشاط المضاد للبكتيريا؛ البكتيريا متعددة المقاومة؛ المستخلصات المائية؛ المستخلصات العضوية؛ ندرومة، تلمسان.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the antibacterial activity of *Ballota hirsuta* (Lamiaceae) extracts, a plant used in traditional medicine, against multidrug-resistant strains isolated from the University Hospital Center (CHU) of Tlemcen, as well as reference strains.

Extracts were prepared from the leaves, before and after delipidation, using both polar and non-polar solvents. The tests were performed on seven reference bacterial strains and six clinically isolated multidrug-resistant pathogens, using agar diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) determination methods. The results revealed no significant antibacterial activity for all tested extracts (inhibition zones = 6 mm; $MIC > 100$ mg/mL), even at intermediate concentrations (10, 20, 50 mg/mL). Some limitations were encountered with the post-delipidation lipid extracts, which were not tested due to their oily aspect.

These results indicate a lack of antimicrobial effect under the applied experimental conditions. Further investigations, including bio-guided fractionation and analysis of active metabolites, are needed to better assess the therapeutic potential of this species.

Keywords: *Ballota hirsuta*; antibacterial activity; multidrug-resistant bacteria; aqueous extracts; organic extracts; Nedroma.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de *Ballota hirsuta* (Lamiaceae), plante utilisée en médecine traditionnelle, contre des souches multirésistantes isolées du CHU de Tlemcen ainsi que des souches de référence.

Des extraits ont été préparés à partir des feuilles, avant et après délipidation, à l'aide de solvants polaires et apolaires. Les tests ont été menés sur sept souches bactériennes de référence et six souches pathogènes cliniques multirésistantes, en utilisant les méthodes de diffusion sur gélose et de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Les résultats ont révélé une absence d'activité antibactérienne significative pour tous les extraits testés (zones d'inhibition = 6 mm ; $CMI > 100$ mg/mL), même à des concentrations intermédiaires (10, 20, 50 mg/mL). Certaines limitations ont été rencontrées avec les extraits lipidiques post-délipidation, non testés en raison de leur aspect huileux.

Ces résultats indiquent une absence d'effet antimicrobien dans les conditions expérimentales appliquées. Des investigations complémentaires, incluant le fractionnement bio-guidé et l'analyse des métabolites actifs, sont nécessaires pour mieux évaluer le potentiel thérapeutique de cette espèce.

Mots-clés : *Ballota hirsuta* ; activité antibactérienne ; bactéries multirésistantes ; extraits aqueux ; extraits organiques ; Nedroma.