

République Algérienne démocratique et populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



**Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la
Recherche Scientifique**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ziane Achour – Djelfa

جامعة زيان عاشور-الجلفة



Faculté des sciences de la nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département des sciences agronomiques et vétérinaires

قسم العلوم الفلاحية و البيطرة

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master en sciences alimentaires

Spécialité : agro-alimentaire et contrôle de qualité

Thème :

**L'effet antimicrobien des extraits végétaux sur des
souches responsables de toxi-infections
alimentaires**

Présenté par :

- KachamSamahNessrine

- KherfaneKhadidja Amat-Errahmane

Soutenu devant le jury composé de :

President: Mr. KHALED KHODJA Y.

MCA

Université de Djelfa

Promotrice: Mme KHEMKHAM A.

MCB

Université de Djelfa

Examinatrice : Mme BRAHIMI S.

MCB

Université de Djelfa

Année universitaire :2024/2025

Remerciements

À l'issue de ce travail de fin d'études, nous adressons nos sincères remerciements, en tout premier lieu, à Allah Tout-Puissant qui nous accordé la santé, la volonté et la patience.

Nous tenons ensuite à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrant, **Mme KHEMKHAM A.** pour son accompagnement, son suivi et ses encouragements.

Nous adressons nos sincères remerciement aux membres du jury **MrKHALED KHODJA Y.** et **MmeBRAHIMI S.** pour leur temps consacré à l'évaluation de ce travail et pour leurs précieux conseils

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble de nos enseignants du Département des sciences agronomiques et vétérinaires

Nous n'excluons pas de ces remerciements toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire. Nous remercions également nos familles et nos amis pour leur précieux soutien moral.

Enfin, nous exprimons toute notre reconnaissance et notre gratitude à nos parents pour leur soutien inconditionnel tout au long de nos longues années d'études.

Dédicaces

À la mémoire de mon père, toujours présent dans mes prières et mes réussites.

À ma mère tendre, source d'amour et de réconfort.

À mes frères, mon véritable appui.

À mes amies (Khadidja, Fatna, Wafa, Abla, Iman, Nour, Marwa), mes camarades (Chihab, Ahmed, Saber) compagnons de persévérance et de joie.

À mes chers enseignants, phares du savoir.

Je vous dédie ce travail en signe de gratitude et de fidélité.

KachamSamahNesrine

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

-Ma chère mère et mon cher père qui ont sacrifié tout au long de mon parcours académique,

- À mes frères (Mohamed, Khaled, Hamza, Ali) et ma sœur (Amina),

- À toute ma famille qui est fière de moi, pour son soutien indéfectible et sa fierté (Halima, Yasmine, Soumia, Sarah...)

Et à toutes mes amies ainsi qu'à tous ceux qui me sont chers (Samah, Baya, Imane, Nour, Marwa, Kahina, Asmaa, Abir, Wafa, Abla, Bouchra), mes camarades (Chihab, Ahmed, Saber).

À mes chers enseignants, phares du savoir.

KherfaneKhadidja Amat-Errahmane

Sommaire

Liste des abréviations	I
Listes des figures	II
Listes des tableaux	III
Introduction	1
Chapitre I : Généralités sur les plantes étudiées	
I.1 les plantes aromatique et médicinales	3
I.2 Généralités sur les plantes étudiées	3
I.2.1 <i>Ceratonia siliqua</i>	3
I.2.1.1 Nomenclature	3
I.2.1.2 Origine géographique	4
I.2.1.3 Classification systématique	4
I.2.1.4 Description botanique	5
I.2.1.5 Composition chimique	5
I.2.1.6 Applications de <i>Ceratonia siliqua</i>	6
I.2.2 <i>Lavandula angustifolia</i>	8
I.2.2.1 Nomenclature	8
I.2.2.2 Origine géographiques	8
I.2.2.3 Classification systématique	8
I.2.2.4 Description botanique	8
I.2.2.5 Composition chimique	9
I.2.2.6 Applications de <i>Lavandula angustifolia</i>	10
I.2.3 <i>Thymus vulgaris</i>	10
I.2.3.1 Nomenclature	10
I.2.3.2 Origine géographique	11
I.2.3.3 Classification systématique	11
I.2.3.4 Description botanique	12
I.2.3.5 Composition chimique	12
I.2.3.6 Applications de <i>Thymus vulgaris</i>	12
Chapitre II :Évaluation des activités antibactériennes des substances bioactives	
II.1 Généralités	14
II.1.2 Souches bactériennes testées	14

II.1.2.1 <i>Escherichia coli</i>	14
II.1.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
II.1.3 Principes de l'activité antibactérienne.....	15
II.1.4 Méthodes de détection de l'activité antibactérienne.....	15
II.1.4.1 Méthode de diffusion sur disque (Kirby-Baue)	15
II.1.4.2 Méthode de dilution en milieu liquide(CMI-Concentration Minimal Inhibitrice)	15
II.1.4.3 Méthode de dilution en milieu solide (sur gélose)	16
II.1.4.4 Méthode par microdilution en milieu liquide	16
II.1.4.5 Méthode colorimétrique	16
II.2 Antibiotique	16
II.2.1 Définition	16
II.2.2 Type des antibiotiques	16
II.2.3 Classification des antibiotiques	17
II.2.4 Mode d'action des antibiotiques	18

Chapitre III :Matériel et Méthodes

III.1Matériel végétal	19
III.2 Méthodes	19
III.2.1 Préparation de l'extrait aqueux	19
III.2.2 Criblage phytochimique	20
III.2.2.1 Dosage de la teneur en phénols totaux	21
III. 2.2.1.1 Préparation des solutions	21
III. 2.2.1.2 Mélange réactionnel	22
III.2.2.2 Dosage des flavonoïdes	23
III. 2.2.2.1 Préparation des solutions	23
III. 2.2.2.2 Mélange réactionnel	23
III.3 Activité antibactérienne	24
III.3.1 Coulage des milieux de culture	24
III.3.2 Préparation de la suspension bactérienne.....	25
III.3.3 Ensemencement sur le MH et dépôts des disques imprégnés	25
III.3.4 Incubation et lecture des résultats	26

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1 Rendement d'extraction aqueuse	27
IV.2 Etude phytochimique	27

Sommaire

IV.2.1. Dosage des composés phénoliques totaux	28
IV.2.2. Dosage des flavonoïdes	29
IV.3 Activité antibactérienne	30
IV.3.1 Effet des antibiotiques standards sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	30
IV.3.2 Effet des extraits aqueux sur <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i>	31
IV.3.3 Effet combiné des extraits aqueux sur les souches bactériennes	32
Conclusion	34
Références	36
Résumé	

Liste des abréviations

AMC : Amoxiclave (AMC 30)

AMP : Adénosine Monophosphate

AND : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

ATCC : American Type Culture Collection

CZ : Céfazoline (CZ 30)

DO : Densité Optique

EAG : Equivalents d'Acide Gallique

FO : Fosfomycine (200)

MH : Mueller-Hinton

MIC : Minimum Inhibitory Concentration (Concentration Minimal Inhibitrice)

MSSA : Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORL ; Oto-Rhino-Laryngologie

TPC : Total Phenolic Content

WHO : World Health Organization

Liste des figures

Fig. I.1: Le caroubier.....	3
Fig. I.2: Aire de répartition du caroubier dans le monde	4
Fig.I.3: <i>Lavandula angustifolia</i>	9
Fig. I.4: <i>Thymus vulgaris</i>	10
Fig. I.5: Répartition géographique du thym dans le monde	11
Fig. II.6: Mode d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne	18
Fig. III.1: Préparation de l'extrait aqueux	19
Fig. III.2: Tests de criblage phytochimique	21
Fig. III.3: Dissolution de la gélose	25
Fig. III.4: Coulage de la gélose	25
Fig. III.5: Manipulation aseptique des disques imprégnés.....	26
Fig. IV.1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	29
Fig. IV.2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine	29
Fig. IV.3: Effet des antibiotiques standards sur <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i>	30
Fig. IV.4: Diamètres d'inhibition des antibiotiques.....	30

Liste des tableaux

Tableau I.1: Valeurs moyennes de la teneur en minéraux de la poudre de caroube	6
Tableau I.2: Principaux composants actifs du genre <i>Lavandula</i>	9
Tableau II.1: Classification biochimique des antibiotiques	17
Tableau III.1: Série de dilutions d'acide gallique	21
Tableau III.2: Mélange réactionnel de dosage des phénols totaux.....	22
Tableau III.3: Série de dilutions de quercetine.....	23
Tableau III.4: Mélange réactionnel de dosage des flavonoïdes	24
Tableau IV.1: Résultats des rendements d'extraction aqueuse des trois plantes étudiées	27
Tableau IV.2: Résultats de criblage phytochimique	27
Tableau IV.3: Teneur en phénols totaux dans les extraits aqueux	29
Tableau IV.4 : Teneur en flavonoïdes dans les extraits aqueux.....	30
Tableau IV.5 Effet des extraits aqueux sur <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i>	31
Tableau IV.6: Diamètres des zones d'inhibition des associations des extraits aqueux.....	33

Introduction

Introduction :

La résistance bactérienne aux antibiotiques est l'un des problèmes de santé les plus graves de notre époque et constitue une menace réelle pour la santé publique mondiale, selon l'organisation mondiale de la Santé (OMS, 2014). Avec l'utilisation croissante et incontrôlée des antibiotiques en médecine et en agriculture, des souches bactériennes résistantes aux traitements disponibles sont apparues, réduisant l'efficacité de nombreux antibiotiques connus (Ventola, 2015), entravant le contrôle de certaines maladies infectieuses et provoquant même la réapparition de maladies auparavant maîtrisées.

Face à cette situation sanitaire critique, chercheurs et scientifiques se tournent vers la nature pour trouver des traitements efficaces, notamment dans le domaine des plantes médicinales et aromatiques, qui comptent parmi les sources les plus riches en composés bioactifs naturels (Cowan, 1999). Depuis des millénaires, la médecine traditionnelle utilise les plantes pour traiter diverses affections grâce à leurs composés actifs tels que les huiles essentielles, les phénols, les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes, qui possèdent une activité antimicrobienne contre de nombreux micro-organismes (Nostro&Papalia, 2012).

Parmi les plantes qui ont suscité l'intérêt de la recherche ces dernières années figure le thym commun (*Thymus vulgaris*), riche en composés tels que le thymol et le carvacrol (Qureshi et al., 2022), qui a démontré une efficacité significative dans la lutte contre de nombreuses bactéries pathogènes. La lavande (*Lavandula angustifolia*), connue pour ses propriétés antiseptiques et apaisantes, contient des composés aromatiques aux propriétés antibactériennes (Boukhatem et al., 2014). La caroube (*Ceratonia siliqua*), traditionnellement utilisée en médecine populaire, commence à être confirmée par la recherche (El Bouzidi et al., 2018).

Ce présent mémoire est organisé en quatre chapitres, encadrés par une :

Introduction : elle présente le contexte et la problématique de notre travail, ainsi que les objectifs fixés et l'intérêt scientifique de l'étude.

- Chapitre 1: dans ce premier chapitre, nous avons présenté des généralités sur les plantes étudiées en mettant en évidence leurs caractéristiques et leurs principales utilisations.
- Chapitre 2: ce chapitre est consacré à l'évaluation des activités antibactériennes des substances bioactives, description des souches pathogènes et l'action des antibiotiques

- Chapitre 3: dans ce chapitre, nous avons décrit le matériel et les méthodes utilisés au cours de notre travail expérimental, notamment les techniques d'extraction et les protocoles appliqués.
- Chapitre 4: ce dernier chapitre est réservé à la présentation et à la discussion des résultats obtenus, où nous avons analysé et interprété les données issues de notre étude.
- Conclusion : elle résume les principaux résultats de notre recherche, met en évidence les perspectives et propose quelques pistes pour de futurs travaux.

Chapitre I:

Généralités sur les plantes étudiées

I.1 les plantes aromatique et médicinales:

L'Organisation mondiale de la santé (WHO) indique que 80 % des pays en développement bénéficient encore de l'utilisation de plantes médicinales traditionnelles (Mishra et al., 2013) et (Chin et al., 2006). Le nombre total d'espèces de plantes est estimé à environ 374000 (Christenhusz & Byng, 2016), tandis que 28187 espèces de plantes médicinales sont utilisées par l'homme (MNPS, 2021).

L'OMS a également enregistré les noms de plus de 20 000 plantes médicinales (Srinivasan et al., 2001) et identifié les plantes médicinales comme étant une des sources potentielles de nouveaux médicaments (Yadav & Agarwala, 2011). Plus de 100 pays ont adopté des réglementations sur les plantes médicinales. Plus de 1 340 espèces végétales ont montré une activité antimicrobienne, et plus de 30 000 composés antimicrobiens ont été isolés des plantes (Tajkarimi et al., 2010).

I.2 Généralités sur les plantes étudiées:

I.2.1 *Ceratoniasiliqua*.

I.2.1.1 Nomenclature:

Le nom scientifique du caroubier (Fig. I.1), *Ceratonia siliqua*, a été proposé par Linné et dérive du grec « Keras » (corne) et du latin « siliqua » (gousse), faisant allusion à la dureté et à la forme de la gousse. Dans différents pays et langues, *C. siliqua* L. est connu sous la forme générique du nom arabe Al kharroub ou kharrub, comme l'espagnol algarrobo ou garrofero (Albanell, 1990).

De plus, Batlle et Tous (1997) ont mentionné que son nom commun vient du mot hébreu Kharkiv, qui a donné lieu à plusieurs dérivés tels que kharrub en arabe, algarrobo en espagnol, carrubo en italien, caroubier en français, garrofer ou garrover en catalan.



Fig. I.1: Le caroubier (*Ceratoniasiliqua*)(canopy. org, 2025)

I.2.1.2 Origine géographique:

La plupart des chercheurs considèrent que *Ceratonia Siliqua* est originaire du bassin méditerranéen oriental (De Candolle, 1886; Sahin et Taşlıgil, 2016), bien que certains pensent qu'il est originaire d'ailleurs. Schweinfurth (1894) pensait que le caroubier était originaire du sud de l'Arabie (Yémen) (Sahin et Taşlıgil, 2016), tandis que Zohary (1973) le considérait comme appartenant à la flore indo-malaisienne avec l'olivier, le laurier et le myrte (Zohary, 1973).

De plus, *C. Oreothauma* est la seule espèce connue apparentée au caroubier, originaire du sud-est de l'Arabie, en particulier d'Oman, et de la Corne de l'Afrique, en particulier du nord de la Somalie (Fig. I.2) (Hillcoat, Lewis et Verdcourt, 1980).



Fig. I.2: Aire de répartition du caroubier dans le monde (Batlle et Tous 1997)

I.2.1.3 Classification systématique:

La classification de l'espèce *Ceratonia siliqua* est comme suit (Quezel et Santa., 1962):

Règne: Plante

Sous –règne: Tracheobionta (plante vasculaire)

Embranchement: Spermaphytes

Sous-embranchement: Magnoliophyta (Angiosperme)

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Rosidae

Ordre: Fabales

Famille: Fabaceae

Sous –famille: Caesalpinioideas

Genre: *Ceratonia*.

Espèce: *Ceratonia siliqua*.

I.2.1.4 Description botanique:

Le caroubier est un arbre vivace résistant à la sécheresse avec une longue période de production (100 à 150 ans) (Iipumbu, 2008). Il a une couronne très épaisse et arrondie et un tronc épais, fortement fissuré et tordu, semblable à celui d'un olivier. C'est parce que le caroubier a une croissance lente et une longue durée de vie, jusqu'à 500 ans. La circonférence de la base du tronc peut atteindre 2 à 3 mètres. Cette espèce ligneuse a une écorce lisse et grise lorsqu'elle est jeune, qui devient brune et rugueuse à mesure qu'elle mûrit. Le bois est blanc jaunâtre au début, mais en vieillissant, la texture devient rose, puis devient finalement rouge foncé et dure. Le système racinaire pivotant de l'arbre peut atteindre des profondeurs allant jusqu'à 18 mètres (Benmahiou, Harche et Daguin, 2011), (Asma, Meriem et Rafika, 2022). Ses feuilles sont persistantes, assez grandes (10 à 20 cm de long) et régulièrement pennées, constituées de 4 à 8 folioles, rarement plus. Les folioles sont ovales, entières, coriaces, vert foncé et lisses dessus et vert clair dessous. (Kaderi et al., 2015), (Loock, 1940).

Les caroubiers perdent leurs feuilles de deuxième année au début de l'été et repoussent leurs feuilles au printemps. Les tiges profondes et solides pénètrent dans les couches plus profondes du sol pour absorber les nutriments et l'eau dont la plante a besoin.

I.2.1.5 Composition chimique:

La composition chimique des différents composants dépend de la variété, de la région de culture et de la date de récolte. Une étude comparant les principaux composants du sucre de la pulpe de caroube des espèces cultivées et sauvages a montré que le saccharose était le sucre le plus abondant, tandis que les espèces sauvages contenaient moins de glucose et de fructose que les espèces cultivées. Bien que les rapports entre les sucres individuels et les sucres totaux soient similaires dans les deux cas (Biner et al., 2007).

La pulpe charnue contient environ 50 % de sucres (principalement du saccharose, du glucose, du fructose, du maltose), 18% de cellulose et d'hémicellulose, 16 à 20 % de tanins et 1 à 2 % de protéines, et ne contient ni théobromine ni caféine. Il est riche en calcium, phosphore, potassium, magnésium et pectine (Aafi, 1996).

Tableau I. 1: Valeurs moyennes de la teneur en minéraux de la poudre de caroube (mg/kg)
(M. Kamal E. Youssef et al., 2013)

Minérale	mg/kg
Mn	24 .10
Zn	71 .24
Fe	80 .381
Cu	84 .4
Se	79 .9
Ca	2123
Na	97 .505
K	64 .8637
P	21 .2255
S	80 .17577

I.2.1.6 Applications de *Ceratonia siliqua*.

a. Traditionnel:

Les humains utilisent la caroube comme source de nourriture et à des fins médicinales depuis l'Antiquité, en raison de ses fruits comestibles, communément appelés gousses ou simplement caroubes. Actuellement, la principale utilisation est l'extraction des gencives à partir des graines. L'utilisation de la caroube remonte aux anciens Égyptiens, qui nourrissaient le bétail avec des gousses de caroube et utilisaient la gomme comme adhésif dans la reliure de momie. Les Arabes utilisaient la graine de caroube comme unité de poids et l'appelaient « qirat » ou « karat ». Le poids standard des graines de caroube est devenu l'unité de poids pour l'or et les pierres précieuses (Brassesco et al., 2021). Le fruit du caroubier est constitué d'une pulpe enveloppant les graines régulières. En effet, la pulpe sucrée de la caroube est utilisée depuis longtemps comme aliment pour le bétail aux côtés d'autres aliments tels que la farine d'orge.

Le caroubier, *C. siliqua*., est réputé pour ses propriétés médicinales. Les gousses de caroube exercent des activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antidiarrhéiques,

antioxydantes, antiulcéreuses, anticonstipatives et d'inhibition de l'absorption du glucose dans le tractus gastro-intestinal (Brassesco et al., 2021). Traditionnellement, les fruits de caroube ont également été utilisés comme antitussif et contre les verrues (Merzouki et al., 1997), (Amico and Sorce, 1997). *C. Siliqua* L. a été utilisé pour traiter plusieurs maladies. Parmi ses utilisations traditionnelles en médecine intégrative, nous constatons qu'en Palestine, les gousses de caroube et les graines sont utilisées pour traiter l'hypertension artérielle (Ali-Shtayeh et al., 2013). Une infusion de feuilles de caroube est utilisée comme émétique en cas d'intoxication aiguë (Lachkar et al., 2016). En Tunisie, la caroube est utilisée pour traiter les troubles gastro-intestinaux et le jus de caroube est également utilisé pour lutter contre la diarrhée (Rtibi et al., 2017). Au Maroc, les feuilles de caroube et les graines sont utilisées dans le traitement du diabète (Mrabti et al., 2019), (Ouhaddou et al., 2014). Les feuilles de caroube sont traditionnellement utilisées en Turquie pour traiter la diarrhée (Rima, 2021). Le bois de caroube était aussi traditionnellement utilisé pour fabriquer du charbon de bois à combustion lente (Battle and Tous, 1997).

b. Industrielles:

La caroube (*C. Siliqua*) est potentiellement importante pour l'industrie alimentaire en raison de ses constituants chimiques, de ses propriétés aromatisantes et de ses bienfaits nutritionnels. Il est également exploité dans les domaines de la cosmétologie, de la chimie et de la médecine. La caroube se compose de 90 % de pulpe et de 10 % de graines, les graines de caroube sont souvent laissées en tant que sous-produit ou déchet alimentaire après la fabrication de produits primaires comme la farine, la poudre et le sirop (Mekhoukhe et al., 2019).

Actuellement, les gousses de caroube sont couramment utilisées dans les gâteaux, les biscuits, les boissons et diverses collations en Égypte. Les confitures et liqueurs sont fabriquées à partir de caroube en Turquie, à Malte, au Portugal, en Espagne et en Sicile. En Libye, un sirop appelé « rub » est extrait de caroube et utilisé pour faire « asida », un dessert traditionnel (Brassesco et al., 2021).

I.2.2 *Lavandula angustifolia*.

I.2.2.1 Nomenclature:

La lavande est définie comme une plante vivace de la famille des Lamiacées. Dérivé du mot latin « lavare », qui signifie nettoyer (Chu et Kemper, 2001). Cette plante odorante était devenue indispensable dans les bains des Romains où elle symbolisait la propreté et la pureté. Le genre *Lavandula* comprend de nombreux hybrides et une trentaine d'espèces.

I.2.2.2 Origine géographiques:

Au départ, les lavandes poussent en Provence et dans le bassin méditerranéen, puis la culture s'est répandue en Europe de l'est (Bulgarie, Russie, Ukraine...) et même en Tasmanie ou encore au Canada où des plantes mutées peuvent désormais résister au gel.

En Algérie la lavande se trouve dans tout le tell algérien sous forme spontanée et cultivé dans la willaya de Tlemcen et aussi dans la région d'Azzaba willaya de Skikda (Boughendjioua, 2017).

2.2.3 Classification systématique:

La classification de l'espèce *Lavandula angustifolia* est comme suit (Upson et Andrews, 2004):

Règne: Plantae

Sous règne: Plantes vasculaires

Embranchement: Spermaphytes

Sous embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous classe: Dialypétales

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Sous-famille: Nepetoideae

Genre: *Lavandula*

Espèce: *Lavandula angustifolia*.

I.2.2.4 Description botanique:

La lavande se classe parmi les labiées (également appelées labiacées), tout comme le thym, le romarin, la sarriette, la sauge et la marjolaine. Sa tige est pourvue de feuilles à sa base, mais elle est dépourvue de feuilles dans sa section supérieure. Les feuilles présentent

une teinte vert-gris et se distinguent par leur forme longue et disposée de manière opposée. Alors que des fleurs marquées d'un beau bleu-violet se rassemblent en épis à la cime de la plante, on trouve aussi d'autres variétés aux fleurs roses ou blanches. Elle se distingue par son odeur particulière intense, légèrement camphrée (JAEGLY, 2003).

C'est une plante qui une fois adulte préfère rester sèche (BELMONT, 2013). Elle croît à l'état naturel sur quelques îles de l'Atlantique et s'étend depuis le bassin méditerranéen, en passant par le nord de l'Afrique tropicale, le Moyen-Orient, l'Arabie et jusqu'en Inde (DEUTSCH, 2001). C'est un arbuste de la famille des Lamiacées (Fig. I.3). Les propriétés naturelles de son huile essentielle en font un conservateur prometteur dans l'industrie alimentaire (Fennane et al., 2016).



Fig. I.3: *Lavandula angustifolia* (cloversgarden. com, 2025)

I.2.2.5 Composition chimique:

Les constituants chimiques potentiellement actifs du genre *Lavandula* sont présentés dans le Tableau I.2.

Tableau I.2: Principaux composants actifs du genre *Lavandula* (Belmont, 2013)

Classe	Exemple
Monoterpènes	α -pinene, β -pinene, β -ocimene, camphre, limonene, p-cymene, sabinene, terpinen
Monoterpènealcools	α -terpineol, borneol, lavandulol, linalool, p-cymen-8-ol, transpivocarveol
Monoterpènealdéhyde	aldéhyde de cumin
Monoterpèneétherè	1, 8-cineole
Monoterpènes esters	acetate de linalyl, acetate de terpenyl
Monoterpènescétones	carvone, coumarine, cryptone, fenchone, methylheptenone, noctanone, nopinone, p-methylacetophenone
Benzoïdes	eugenol, coumarine, carvacrol, acide hydroxycinnamique, aciderosmarinique, thymol
Sesquiterpènes	caryophyllène, oxide de caryophyllène, α -photosantanol, α -santalal, norsantalenone

I.2.2.6 Applications de *Lavandula angustifolia*:

a. Propriétés médicinales:

-**Antalgiques**: les principes actifs majeurs de la lavande tels que le linalol, l'acétate de linalyle, les terpinènes-1 et 4-ol ont des effets antalgiques démontrés (action sur les récepteurs muscariniques, opioïdes et dopaminergiques).

-**Antispasmodiques**: les principes actifs ont également des propriétés spasmolytiques et myorelaxants par l'action médiée par l'AMP cyclique.

-**Cicatrisation cutanée**: la présence de camphre dans l'huile stimule la nutrition des tissus et améliore l'activité circulatoire, ce qui favorise la cicatrisation et la régénérescence de la peau.

-**Sédation**: le linalol est une molécule aux propriétés hypotensives, antalgiques, relaxantes et sédatives. Il réduit le temps d'ouverture des canaux ioniques de la jonction neuromusculaire par un blocage des canaux Na⁺ et/ou Ca²⁺.

-**Traitement des troubles ORL et respiratoires**: Grâce aux propriétés anticatarrhales et expectorantes de la Lavande vraie, les infections ORL figurent parmi les indications de l'huile (otite, rhinite, rhino-pharyngite, bronchite).

b. Propriétés industrielles:

La lavande a été traditionnellement utilisée comme plante aromatique et cosmétique dans la préparation des parfums, les poudres de talc et les bougies parfumées, les savons (Chu et Kemper, 2001).

I.2.3 *Thymus vulgaris*.

I.2.3.1 Nomenclature:

Le thym (*Thymus vulgaris*) a été nommé par Carl Von Linné en 1753 et est encore utilisé dans toute la nomenclature scientifique aujourd'hui. C'est une plante inscrite à la pharmacopée méditerranéenne (Fig. I.4). Sa particularité réside dans le fait qu'il présente une diversité chimique très importante, ce qui lui confère une variété de composants médicinaux.



Fig. I.4: *Thymus vulgaris* (Kew science-plant of the world online, 2025)

I.2.3.2 Origine géographique:

Le *Thymus* est largement répandu en Europe, en Asie occidentale et autour de la Méditerranée (Dob et al., 2006). La plante pousse dans l'ouest de l'Afrique du Nord (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) et dans les régions montagneuses d'Éthiopie et du sud-ouest de l'Arabie, jusqu'à la péninsule du Sinaï en Égypte (Fig. I.5). On le retrouve également en Sibérie et même dans l'Himalaya. Selon l'étude menée par Nickavaret al (2005), il existe environ 110 espèces différentes de *Thymus* dans le bassin méditerranéen.

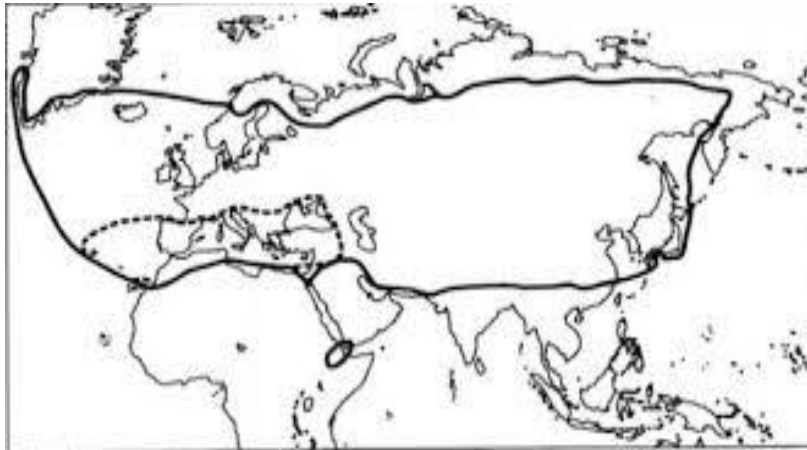


Fig. I.5: Répartition géographique du thym dans le monde (Morales 1997)

I.2.3.3 Classification systématique:

La classification de l'espèce *Thymus vulgaris* est présentée comme suit (GOETZ et GHEDIRA, 2012):

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Embranchement: Magnoliophyta

Sous embranchement: Magnoliophytina

Classe: Magnoliopsida

Sous classe: Asteridae

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre: *Thymus*

Espèces: *Thymus vulgaris*.

I.2.3.4 Description botanique:

Le thym est un sous-arbrisseau buissonnant à tige dressée, ligneuse, ramifiée et torsadée à la base, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Les branches blanches à poils courts portent des folioles persistantes (3 à 12 mm de long, 0,5 à 3 mm de large), opposées, lancéolées ou linéaires, à limbes entiers ; ils sont presque sessiles et de couleur gris-vert ; nombreuses sont les origines de branches très courtes, formant des faisceaux de folioles à partir des feuilles de la tige ; leurs faces inférieures sont feutrées et couvertes de poils sécrétoires, tandis que leurs faces supérieures sont glabres et présentent une nervure centrale enfoncée ; les marges des limbes des feuilles sont souvent enroulées ventralement, donnant aux feuilles une apparence d'aiguille.

Les fleurs sont regroupées en 2 à 3 morceaux, formant des inflorescences sphériques ovoïdes, poussant à l'aisselle des feuilles. Ils sont petits et bilatéralement symétriques ; le calice est poilu et la base du tube est ventrue, longue de 3 à 4 mm ; les 5 sépales sont soudés en 2 lèvres de longueur inégale, le sépale supérieur est à trois dents, le sépale inférieur est à deux lobes, cilié et arqué ; la corolle varie en taille, est à double lèvre et est lavande. Le fruit est tétracarpe, contenant 4 minuscules graines (1 mm) à maturité, brun clair à brun foncé. La période de floraison s'étend de juin à octobre (Goetz et Ghedira, 2012).

I.2.3.5-Composition chimique:

Les plantes de thym contiennent des composés terpéniques, des dérivés phénoliques, des aldéhydes, des cétones, des éthers, des esters et des huiles essentielles, parmi lesquels les principaux composés sont des composés phénoliques tels que le thymol ou le thymol, ou des composés non phénoliques tels que le géraniol, le bornéol, l'alcool de thuyone, l' α -terpinéol ou le p-pinène, qui varient selon l'espèce et le chémotype. Les plantes de ce genre contiennent également des composés phénoliques, principalement des acides phénoliques (acide rosmarinique, acide caféique), des flavonoïdes, des tanins et des saponines. (Kosakowska et al., 2020).

I.2.3.6 Applications de *Thymus vulgaris*:

a. Attributs thérapeutiques:

Utilisé pour soigner les troubles respiratoires (rhume, grippe, angine). Employé comme rince-bouche pour la gingivite et en gargarisme pour l'irritation de la gorge. Gestion

des problèmes gastriques (dyspepsie, indigestion). Gestion des infections urinaires (Jiminez-Arellanes et al., 2006). Médicament antiparasitaire contre les oxyures et les ascaris.

b. Propriétés antiseptiques:

Pommades antiseptiques et favorisant la cicatrisation

c. Caractéristiques industrielles:

Le thym est employé dans la cuisine pour son goût et pour prévenir la contamination des aliments (Mebarki, 2010).

Chapitre II:
Évaluation des
activités
antibactériennes des
substances bioactives

II.1 Généralités:

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont bien connues Depuis l'Antiquité, mais jusqu'au début du XXe siècle, Les scientifiques commencent à s'intéresser à ce sujet (Haddouchi et Benmansour, 2008) .

De nombreuses bactéries sont capables de pénétrer les muqueuses. Après que la peau soit blessée ou pénètre dans la peau par les follicules pileux, provoquant une infection Les infections bactériennes, qui se manifestent par une suppuration localisée, peuvent Elle se propage ensuite largement sous forme d'infection sanguine.

Ces dernières années, le nombre de cas d'infection locale a considérablement augmenté. Dans le passé, les antibiotiques étaient utilisés à des fins thérapeutiques, mais de nombreux Les bactéries pathogènes sont désormais résistantes à ces antibiotiques et produits naturels Les extraits de plantes médicinales pourraient être une nouvelle source d'agents antimicrobiens (Brantner et Grein, 1994) .

II.1.2 Souches bactériennes testées

II.1.2.1 *Escherichia coli*:

Escherichia coli (*E. coli*) a été décrit en 1885 par le pédiatre allemand Theodor Escherich et se trouve dans les selles des enfants souffrant de diarrhée. En 1893, un vétérinaire danois a émis l'hypothèse que l'espèce *E. coli* contenait différentes souches, certaines pathogènes et d'autres non. Aujourd'hui, les espèces d'*E. coli* sont subdivisées en plusieurs souches, dont la plupart sont inoffensives, mais seules quelques-unes sont pathogènes, provoquant des gastro-entérites, des infections des voies urinaires, des méningites ou des septicémies (Mainil, 2013 ; Kaper et al., 2004) .

II.1.2.2 *Staphylococcus aureus*:

La bactérie *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) a été découverte pour la première fois en 1878 par Robert Koch alors qu'il observait au microscope un amas de cellules en forme de grappe de raisin (Spicer, 2003 ; Aouati, 2009) ; un an plus tard, Louis Pasteur isola la bactérie du pus des furoncles et de l'ostéomyélite et la décrivit comme « un organisme unique composé de petits points sphériques, reliés entre eux par paires, rarement en groupes de quatre, et souvent présents en petits amas » (Le loir et Gautier, 2010) . En 1882, le chirurgien Alexander Ogston a nommé *Staphylococcus* d'après les mots grecs *Staphyle*, qui signifie grappe de raisin, et *Kokkos*, qui signifie grain. En 1884, Rodenbach a divisé les

staphylocoques en deux groupes en fonction de la couleur de leurs colonies. Les colonies dorées étaient appelées *Staphylococcus aureus*.

II.1.3 Principes de l'activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne repose sur la capacité d'une substance (naturelle ou synthétique) à inhiber la croissance des bactéries ou à tuer les bactéries. Le mécanisme d'action des agents antimicrobiens varie selon leur nature, mais peut être divisé en plusieurs grandes catégories (Madigan et al., 2021):

a- Inhiber la synthèse de la paroi bactérienne: Par exemple: les β -lactamines (pénicilline, céphalosporine) empêchent la formation de peptidoglycane, essentiel à la paroi bactérienne.

b-Modifications de la membrane cellulaire: Par exemple: les polymyxines interagissent avec les phospholipides membranaires, ce qui entraîne une fuite intracellulaire.

c- Inhiber la synthèse des protéines: Par exemple: les aminoglycosides, les tétracyclines et les macrolides se lient aux ribosomes bactériens et empêchent la traduction.

d-Blocage de la production des acides nucléiques: Par exemples: les quinolones entravent l'action de la gyrase ADN, qui est indispensable pour la duplication de l'ADN bactérien.

e-Antagonisme métabolique: Par exemples: les sulfamides perturbent la production d'acide folique, essentiel à l'expansion des bactéries.

II.1.4 Méthodes de détection de l'activité antibactérienne

II.1.4.1 Méthode de diffusion sur disque (Kirby-Baue):

Il s'agit d'appliquer des disques imbibés d'un extrait ou d'un antibiotique sur une gélose inoculée avec une souche bactérienne. On évalue le diamètre des zones d'inhibition après une période d'incubation (Bauer et al., 1966; Balouiri et al., 2016).

Bénéfice: approche aisée et rapide.

II.1.4.2 Méthode de dilution en milieu liquide (CMI-Concentration Minimal Inhibitrice):

Cette technique sert à identifier la concentration minimale d'un agent antimicrobien qui empêche la croissance des bactéries. On peut la réaliser en utilisant des tubes ou des plaques microtitre (Andrews, 2001; Wiegand et al., 2008).

II.1.4.3 Méthode de dilution en milieu solide (sur gélose):

Cette méthode permet d'évaluer la prolifération bactérienne sur des milieux ayant diverses concentrations d'un agent antimicrobien (Balouiri et al., 2016).

II.1.4.4 Méthode par microdilution en milieu liquide:

Version miniature de la technique antérieure, elle fait appel à des microplaques de 96 puits pour un examen plus rapide et quantitatif (Wiegand et al., 2008).

II.1.4.5 Méthode colorimétrique:

Employée pour identifier la viabilité bactérienne par modification de couleur. Ces examens sont délicats et conçus pour le dépistage à grande échelle. (Sarker et al., 2007).

II.2 Antibiotique

II.2.1 Définition:

On définit les antibiotiques comme des substances ayant la capacité d'arrêter la croissance ou d'éliminer des bactéries, sans nuire à l'hôte (c'est-à-dire, dans notre contexte, aux cellules humaines). Ces derniers autorisent les mécanismes de défense naturels du corps, tels que le système immunitaire, à les éradiquer. Ils interviennent fréquemment en bloquant la production d'une cellule bactérienne, la synthèse protéique, l'ADN et l'ARN, par un élément perturbateur de la membrane, ou par d'autres actions ciblées. (Levy, 2004)

Les antibiotiques proviennent principalement des champignons, mais peuvent également être issus des bactéries. Toutefois, à partir de molécules d'origine naturelle, des changements chimiques sont fréquemment effectués (semi-synthèse) pour optimiser l'activité et/ou ajuster des paramètres pharmacocinétiques cruciaux. Actuellement, la majorité des antibiotiques utilisés en pratique clinique sont obtenus par semi-synthèse. (Vuillemin)

II.2.2 Type des antibiotiques:

Il existe des antibiotiques d'origines naturelle ou synthétique

a. Origine naturelle:

Sur les 10 000 antibiotiques naturels identifiés à travers le monde, 20 % ont pour origine des champignons: *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*. Par ailleurs, 70 % sont issus des actinomycètes microfilaments, dont le genre *Streptomyces* est un producteur prépondérant d'antibiotiques tels que les tétracyclines et les aminoglycosides. Enfin, 10 % proviennent de bactéries (non-actinomycètes), notamment des genres *Bacillus* et

Pseudomonas. Un exemple de cela serait la bacitracine employée pour certains traitements locaux. (Mehdi, 2008)

b. Origine synthétique:

Les antibiotiques de synthèse sont fabriqués soit à partir de dérivés synthétiques, soit en reproduisant des substances initialement obtenues à partir de micro-organismes. On identifie parmi les antibiotiques de synthèse: les sulfamides, le métronidazole, l'isoniazide, l'acide nalidixique ainsi que les fluoroquinolones et les pénèmes. On identifie également des antibiotiques semi-synthétiques, qui sont dérivés de la modification en laboratoire d'une substance produite par un microorganisme. (Mehdi, 2008) .

II.2.3 Classification des antibiotiques:

La catégorisation des antibiotiques peut être complexe, car elle peut se baser sur leur composition, leur provenance, leur mode d'action ou encore leur spectre d'activité. Actuellement, les antibiotiques sont classés en fonction leur nature biochimique (Tableau 2.1)

Tableau II.1: Classification biochimique des antibiotiques (Joffin et Leyral, 2006) .

Classés antibiotiques	Exemples
Aminosides	Streptomycine, Kanamycine, Gentamicine
β -lactamines–Penicillines	Penicilline G, Ampicilline
β -lactamines-Cephems et Oxacephems	Cefalotine, Céfotaxime
β -lactamines- Monobactams	Aztréonam
Fosfomycine	Fosfomycine
Lincosamides	Clindamycine, Lincomycine
Macrolides	Erythromycine, Spiramycine
Nitrofuranes	Nitrofurantoïne
Nitro-5- Imidazolés	Métronidazole
Phénicoles	Chloramphénicol, Ethiamphénicol
Polypeptides	Bacitracine, Colistinepolymyxine
Quinolones	Acidenedixique
Sulfamides et sulfones	Sulfaméthoxazoletriméthoprim
Streptogramines	Pristinamycine, Virginiamycine
Tetracyclines	Tetracyclineminocycline
Vancomycines	Vancomycine

II.2.4 Mode d'action des antibiotiques:

L'action des antibiotiques fait appel à une multitude de mécanismes, liés à la diversité de leur composition chimique et à la structure des micro-organismes sur lesquels ils peuvent être utilisés (Fig. II.6). On peut résumer les divers modes d'action comme:

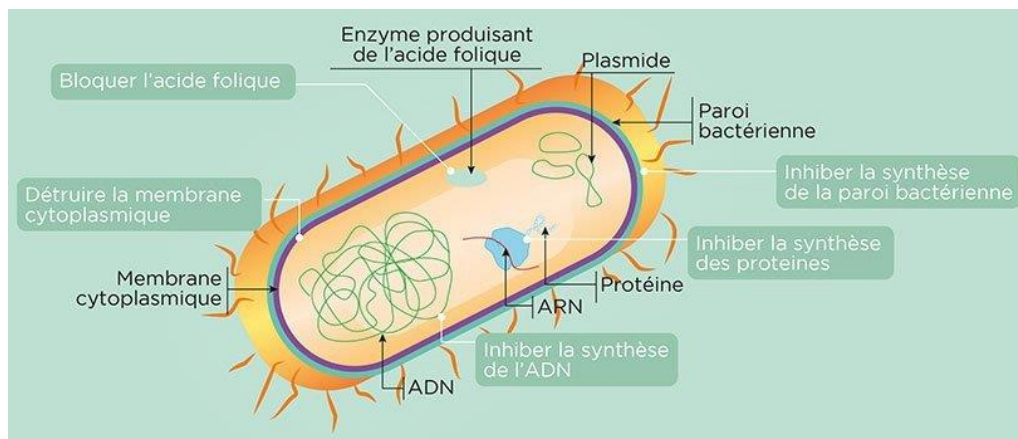


Fig. II.6: Mode d'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne (Inserm, 2021)

a. Effet sur la paroi bactérienne:

L'antibiotique est capable d'interrompre la construction de la paroi cellulaire, entraînant l'explosion de la cellule bactérienne due à une pression osmotique interne (Ferron, 1984 ; Joffin et Leyral, 2006).

b. Action sur la membrane cellulaire:

L'antibiotique a la capacité d'interagir avec les lipides de la membrane, provoquant une désorganisation de la bicouche phospholipidique. Ceci entraîne l'expulsion des composants hydrosolubles à l'extérieur de la cellule (Ferron, 1984 ; Joffin et Leyral, 2006).

c. Action sur l'ADN:

L'antibiotique a la capacité de s'accrocher aux brins de l'hélice d'ADN et d'interrompre la réplication en entravant l'avancement de l'ADN polymérase (Ferron, 1984 ; Joffin et Leyral, 2006).

d. Action sur les ribosomes bactériens:

Plusieurs antibiotiques employés en médecine visent les ribosomes des bactéries. L'antibiotique se lie à la sous-unité ribosomique, qu'il inhibe ensuite dans le cadre de la synthèse des protéines (Ferron, 1984 ; Joffin et Leyral, 2006).

Chapitre III:

Matériel et Méthodes

III.1 Matériel végétal:

Le travail a pour objet l'étude antibactérienne des extraits aqueux de trois plantes: *Thymus vulgaris* (*T. vulgaris*), *Lavandula angustifolia* (*L. angustifolia*) et *Ceratonia siliqua* (*C. siliqua*). Ces plantes ont été achetées auprès d'un herboriste situé dans la région de Djelfa. La partie supérieure (feuilles et tiges) de *T. vulgaris* et *L. angustifolia* ont été utilisés, tandis que la gousse de *C. siliqua* a été prélevée.

III.2 Méthodes:

III.2.1 Préparation de l'extrait aqueux:

Pour le Thym et la Lavande, nous les avons d'abord tamisés pour éliminer les corps étrangers, puis les avons lavées avec de l'eau distillée. Concernant le Caroubier, nous avons commencé par le laver soigneusement puis à le sécher. Ensuite, nous l'avons légèrement broyé.

Les extraits aqueux ont été préparé (Fig. III.1) par la méthode d'infusion selon (Boudjema et al., 2021).

30g de chaque plante sont introduites dans 300 ml d'eau distillée, qu'on laisse infuser pendant une heure. Après filtration à l'aide d'un papier filtre, le filtrat est ensuite lyophilisé, Le produit de cette lyophilisation est broyé afin d'obtenir une poudre fine qui est conservé dans un récipient opaque à basse température (4° C) jusqu'à son utilisation.

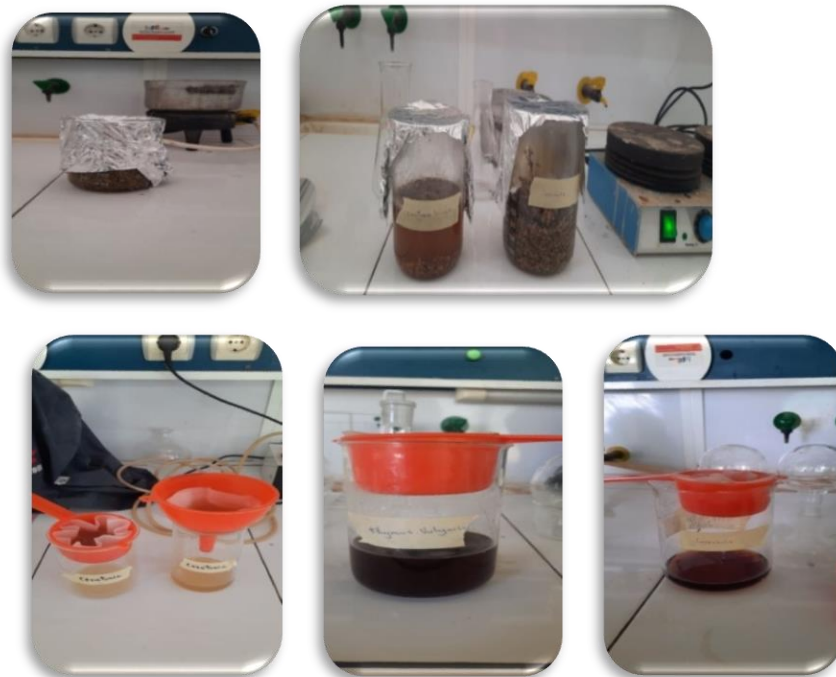


Fig. III.1: Préparation de l'extrait aqueux

III.2.2 Criblage phytochimique:

Le but du criblage phytochimique est d'identifier certains groupes de métabolites secondaires dans les extraits des trois plantes (Fig. III.2). Pour ce faire nous avons réalisé quelques essais (Sharma et al., 2020 ; Dubale et al., 2023).

- **Phénols:** on a mis 1ml d'extrait avec 1ml d'eau distillée. Ensuite, on a ajouté 3 gouttes de FeCl_3 (10%) 100ml eau distillée. La formation d'une couleur bleu, vert ou rouge indique que le test est positif.
- **Terpenoïdes:** Nous avons incorporé 1 ml d'extrait, 0,5 ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique. Apparition d'une couleur rougeâtre à l'interface indiquant que le test est positif.
- **Quinones:** 1 ml d'acide sulfurique concentré est ajouté à 1 ml d'extrait. Une coloration rouge indique la présence des quinones.
- **Glycosides:** on a mélangé 2ml d'extrait avec 3ml chloroforme et 2ml de l'ammoniac (10%). Une coloration rose révèle la présence des glucosides.
- **Glycoside cardiaque:** 1ml d'extrait a été mélangé avec 2ml d'acide acétique concentré, 3 gouttes de FeCl_3 (10%) et 1ml d'acide sulfurique concentré. Le résultat est positif lorsqu'un anneau de couleur marron ou rougeâtre est présent à l'interface.
- **Coumarines:** on a mélangé 1ml d'extrait avec 1ml de NaOH (10%). Formation d'une couleur jaune indique la présence des coumarines.
- **Tannins:** On mélange 1 ml d'extrait avec 2 ml de FeCl_3 (5%) et on laisse ce mélange reposer pendant 2 minutes. Pour un résultat positif, une précipitation se présente en bleu ou en vert noir.
- **Flavonoïdes:** On a incorporé 1 millilitre d'extrait à 1 millilitre de NaOH (2%). Suite à l'apparition d'une couleur jaune, nous avons incorporé deux gouttes de HCl dilué, ce qui a mené à la disparition de la couleur jaune.
- **Saponines:** Pour chaque millilitre d'extrait, nous avons ajouté 5 ml d'eau distillée. On agite le mélange. La présence de saponine est indiquée par une mousse qui persiste quelques minutes.

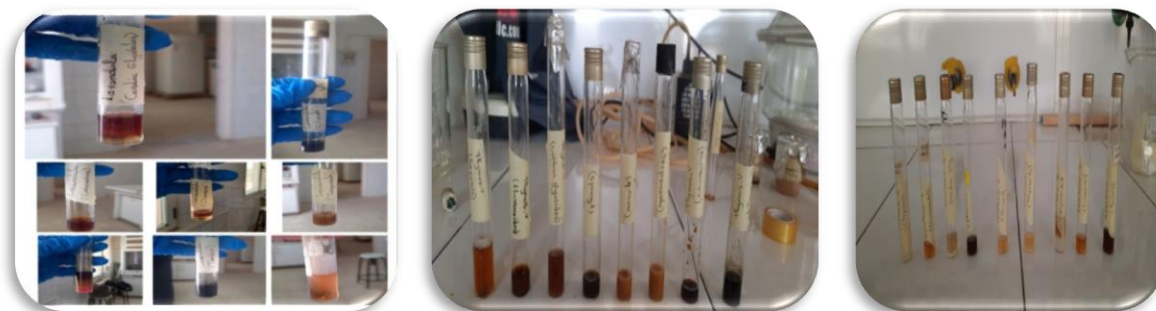


Fig. III.2: Tests de criblage phytochimique

III.2.2.1 Dosage de la teneur en phénols totaux:

En milieu alcalin, les polyphénols réduisent l'acide phosphomolybdique du réactif FolinCiocalteu, qui se traduit par l'apparition d'une coloration bleue foncée. Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode de réactif FolinCiocalteu décrite par Singleton et al. (1999). Le test de dosage des polyphénols totaux permet de déterminer la concentration en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée à partir des concentrations connues de l'acide gallique (mg/ml) et exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g de résidu sec).

III.2.2.1.1 Préparation des solutions:

a. Préparation de Na_2CO_3 (7,5%):

pour préparer la solution de Na_2CO_3 (7,5%), on dissout 7,5 g dans 100 ml d'eau distillée.

b. Préparation de l'acide gallique:

Premièrement, la solution mère a été préparée en ajoutant 5mg de l'acide gallique à 10ml de méthanol. Ensuite, une série de dilutions (25-175 mg/ml) a été préparé (Tableau III.1)

Tableau III.1: Série de dilutions d'acide gallique

Concentration(mg/ml)	175	150	125	100	75	50	25
Solution Mère (ml)	1,4	1,2	1	0,8	0,6	0,4	0,2
Méthanol (ml)	2,6	2,8	3	3,2	3,4	3,6	3,8

c. Préparation de Folin Ciocalteu:

1 ml de F. Ca été mélangé avec 9 ml d'eau distillée.

d. Préparation des extraits:

Deux concentrations différentes ont été préparées dans le méthanol: 50 mg/ml et 1mg/ml.

III.2.2.1.2Mélange réactionnel:

Le mélange réactionnel a été préparé comme suit:

Pour le dosage des polyphénols, 0,5ml de chaque extrait ou standard à différentes concentrations ont été ajoutés à 2 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois). Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 5 minutes. Après 5 min, on ajoute 4 ml de Na_2CO_3 (7,5%) puis on agite le mélange (Tableau III.2). Le mélange final est incubé pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance est mesurée ensuite à 760 nm contre un blanc (solution sans extrait ajouté) Toutes les manipulations ont été effectuées en triplicata afin d'assurer la fiabilité des résultats.

Tableau III.2: Mélange réactionnel de dosage des phénols totaux

	Blanc	Standard (Acide Gallique)	Echt
Méthanol	0.5 ml	-	-
AG	-	0,5ml	-
Echt	-	-	0,5ml
F. C.	2ml	2ml	2ml
Na_2CO_3	4ml	4ml	4ml

Tous les mélanges ont été agités vigoureusement pendant 15 secondes, puis laissés reposer pendant 5 minutes avant l'ajout du carbonate de sodium (Na_2CO_3). Une incubation à température ambiante a été effectuée dans l'obscurité pendant une durée de 30 minutes. Pour le blanc, 0,5 mL de méthanol est mélangé avec 2 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (F.C.) et 4 ml de Na_2CO_3 . L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm. Toutes les manipulations ont été effectuées en triplicata afin d'assurer la fiabilité des résultats.

III.2.2.2 Dosage des flavonoïdes:**III.2.2.2.1 Préparation des solutions:****a. Préparation de la solution de nitrite de sodium(5%):**

5g de nitrite de sodium sont dissous dans l'eau distillée pour obtenir un volume final de 100ml .

b. Préparation de la solution d'hydroxyde de sodium:

Pour la préparation de la solution de sodium hydroxyde, 4g d'hydroxyde de sodium sont dissous dans l'eau distillée pour obtenir un volume final de 100ml.

c. Préparation de la solution de quercétine:

Pour préparer la solution mère à une concentration de 100ug/ml, 10mg de quercétine ont été pesés et dissous dans du méthanol pour obtenir un volume total de 100ml. Pour les autres solutions, des volumes appropriés de la solution mère ont été prélevés et dilués avec du méthanol pour atteindre les concentrations désirées (Tableau III.3).

Tableau III.3: Série de dilutions de quercétine.

Concentration	6,25	12,5	25	50	80	100
Solution mère (ml)	0,25	0,5	1	2	3,2	4
Méthanol (ml)	3,75	3,5	3	2	0,8	-

d. Préparation de la solution de chlorure d'aluminium(10%):

10g de chlorure d'aluminium sont dissous dans l'eau distillée pour obtenir un volume final de 100ml.

e. Préparation des extraits:

Deux concentrations différentes ont été préparées. La première à 0,5 mg/ml: 5 mg d'extrait de chaque plante ont été pesés, puis mélangés avec 10 ml de méthanol. La seconde à 1 mg/ml a été préparée de la même façon que précédemment.

III.2.2.2.2 Mélange réactionnel:

L'évaluation quantitative des flavonoïdes dans les trois extraits a été réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (Zhishen et al., 1999). Brièvement, 1 ml de chaque échantillon ou standard (quercétine) est ajouté aux 4 ml d'eau distillée et 0,3 ml de nitrite de

sodium (5% m/v). Après 5 min d'incubation dans l'obscurité, un volume de 0,3 ml de chlorure d'aluminium (10%) est ajouté au mélange réactionnel (Tableau III.4).Après une deuxième incubation dans l'obscurité (6 min), 2 ml de NaOH sont ajoutés et le volume final est ajusté à 10 ml. Le mélange réactionnel est incubé pendant 15 min. L'absorbance est lue à 415 nm. Les résultats du dosage sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait. Toutes les analyses ont été réalisées en triplicata afin d'assurer la fiabilité des résultats.

Tableau III.4: Mélange réactionnel de dosage des flavonoïdes

	Blanc	Standard	Echt
Extrait	-	-	1 ml
Quercétine	-	1 ml	-
Méthanol	1 ml	-	-
Eau distillé	4 ml	4 ml	4 ml
Sodium Nitrite	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml
Incubation 5 minutes (obscurité)			
AlCl₃ 6H₂O	0,3 ml	0,3 ml	0,3 ml
Incubation 6 minutes (obscurité)			
NaOH	2 ml	2 ml	2 ml
Eau distillé	2,4 ml	2,4 ml	2,4 ml

III.3 Activité antibactérienne:

L'activité antibactérienne a pour objectif d'évaluer l'effet inhibiteur des extraits sur la croissance de bactéries pathogènes. Dans ce travail, deux souches ont été testés, qui ont été prises de la collection de référence ATCC (American Type Culture Collection): *Escherichia coli*(ATCC 25922)et *Staphylococcus aureus*(ATCC 25923). La méthode utilisée est basée sur la diffusion sur gélose à l'aide de disques imprégné. Les étapes expérimentales mises en œuvre pour l'évaluation de cette activité sont détaillées dans les sections suivantes:

III.3.1 Coulage des milieux de culture:

La gélose MHa été dissoute dans un chauffe ballon(Fig. III.3)jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène, puis laissée tiédir à environ 45°C. Dans des conditions aseptiques, près du bec Bunsen, le milieua été versédans des boites de Pétri (Fig. III.4)et laissé solidifier à température ambiante.

Comme remarque, avant le coulage de la gélose, les boîtes de Pétri ont été préalablement étiquetées selon le type d'extrait le type de bactérie et les effets combinés. Elles ont été divisées en trois sections distinctes correspondant aux trois concentrations testées, chaque section a été étiquetée respectivement C1, C2 et C3. Ensuite, elles ont été soigneusement étiquetées selon le type d'extrait et les effets combinés. Les extraits ont été désignés par des codes: E1 pour le premier extrait (*Thymus*), E2 pour le deuxième (*Ceratonia*), E3 pour le troisième (*Lavandula*), tandis que les effets combinés ont été indiqués par des notations telles que E1+E2 pour la combinaison des extraits un et deux.



Fig. III.3: Dissolution de la gélose

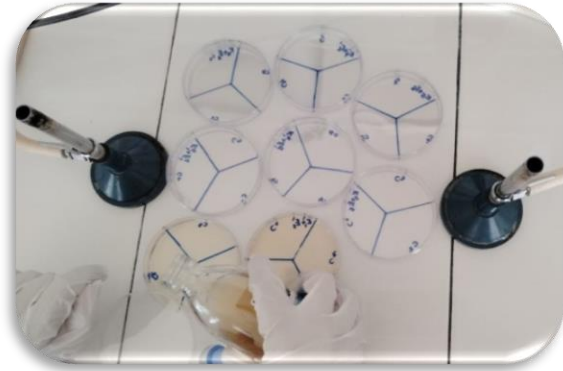


Fig. III.4: Coulage de la gélose

III.3.2 Préparation de la suspension bactérienne:

A partir des cultures jeunes sur GN, on prélève 3 à 5 colonies bien isolées et identiques à l'aide d'une pipette Pasteur, puis, on les transfère dans des tubes à vis contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, on agite au vortex pendant quelques secondes. La standardisation de la suspension à 10^8 UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre après son étalonnage par la solution mère (eau physiologique) réglé sur une longueur d'onde de 625nm. La densité optique (DO) comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml, l'ajustement de la suspension à cette densité se fait par l'addition d'eau physiologique si c'est trop chargé ou de culture si c'est trop faible.

III.3.3 Ensemencement sur le MH et dépôts des disques imprégnés:

Le milieu MH est ensemencé de manière homogène avec la suspension bactérienne à l'aide d'un écouvillon stérile sur toute la surface du milieu. Les disques ont été imprégnés (après la stérilisation à l'autoclave) avec les trois concentrations de chaque extrait 500, 250 et 125 mg/ml (10 microlitre). À l'aide d'une pince stérile, ils ont été soigneusement déposés sur la surface du milieu ensemencé, (Fig. III.5). Les témoins positifs étaient représentés par trois

types de disques d'antibiotiques standards qui sont: Amoxyclav (AMC 30), Fosfomycine (FO 200) et Céfazoline (CZ 30). Un témoin négatif, constitué de disques imprégnés d'eau distillée stérile, a également été utilisé afin de vérifier l'absence d'effet inhibiteur lié au solvant seul.



Fig. III.5: Manipulation aseptique des disques imprégnés

Dans le même contexte, des disques imbibés de mélanges d'extraits de plantes ont également été préparés pour analyser l'effet combiné. Trois combinaisons ont été mises en place: E1+E2, E2+E3 et E3+E1 (5 microlitres pour chaque extrait), chacune étant testée aux mêmes concentrations (C1, C2, C3) que les extraits pris isolément, et appliquée selon le même protocole sur les milieux inoculés.

III.3.4 Incubation et lecture des résultats:

Les boîtes de Pétri sont incubées dans l'étuve pendant 24 heures à 37°C, l'expérience est répétée trois fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne.

Pour la lecture des antibiogrammes, elle a été effectuée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition formées autour des disques à l'aide de pied à coulisse. L'interprétation des résultats s'est basée sur les valeurs de ces diamètres. Alors selon les résultats on peut classer les souches en:

- Non sensible (-) ou résistante: diamètre moins de 8 mm.
- Sensible (+): diamètre entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm. (Ponce *et al.*, 2003).

Chapitre IV :

Résultats et discussion

IV.1 Rendement d'extraction aqueuse

Les rendements d'extraction aqueuse obtenus pour les trois plantes étudiées, à savoir *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia* et *Ceratonia siliqua*, ont été calculés selon la masse sèche initiale de matière végétale. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau IV.1 ci-dessous .

Tableau IV.1: Résultats des rendements d'extraction aqueuse des trois plantes étudiées

Plante	Masse de plante sèche (g)	Masse d'extrait sec (g)	Rendement (%)
<i>Thymus vulgaris</i>	300	4,6	1,53
<i>Ceratonia siliqua</i>	300	8,4	2,8
<i>Lavandula angustifolia</i>	300	3,4	1,13

L'extraction aqueuse de la plante *C.siliqua* a donné le meilleur rendement avec une valeur de 2,8%. Les rendements pour *T.vulgaris* et *L.angustifolia* sont comparables avec des valeurs respectives de 1,53 et 1,13 %.

Le rendement d'extraction dépend de facteurs internes, en relation avec la nature intrinsèque de la plante qui se traduisent par: la composition chimique, la granulométrie et le taux d'humidité. En parallèle, des facteurs externes qui regroupent les conditions expérimentales (technique d'extraction, la nature et la polarité du solvant, la température, la durée d'extraction....) (Benali et al, 2020).

IV.2 Etude phytochimique

Le criblage phytochimique réalisé sur les extraits aqueux des trois plantes a révélé la présence ou l'absence de plusieurs familles de métabolites secondaires. Les résultats de ces tests qualitatifs sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau IV.2):

Tableau IV.2: Résultats de criblage phytochimique

	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Ceratonia siliqua</i>	<i>Lavandula angustifolia</i>
<i>Saponines</i>	+	+	+
<i>Flavonoïdes</i>	+	+	-
<i>Phénols</i>	+	+	+
<i>Quinones</i>	-	-	-
<i>Terpénoïdes</i>	+	-	-
<i>Glycosides</i>	-	-	+
<i>Coumarines</i>	-	+	+
<i>Tanins</i>	+	+	+
<i>Glycosides cardiaques</i>	-	+	-

(+): présence ; (-): absence.

L'exploitation des résultats du tableau ci-dessus révèle une différence notable dans la composition en métabolites secondaires entre les plantes étudiées. Pour *Thymus vulgaris*, le criblage phytochimique a mis en évidence la présence de saponines, flavonoïdes, phénols, terpénoïdes et tanins, tandis que les quinones, glycosides, coumarines et glycosides cardiaques étaient absents. Ces résultats sont conformes aux travaux de Qureshi et al. (2022), qui ont également rapporté la présence de saponines, flavonoïdes et phénols.

Selon les recherches de Elsherif et al. (2023), la présence de flavonoïdes, de phénols et de tanins, ainsi que l'absence de glycosides, sont cohérentes avec nos résultats. En revanche, contrairement à leur étude, nous avons détecté la présence de saponines. Par ailleurs, les résultats positifs des tests pour les saponines, les flavonoïdes et les tanins sont en accord avec ceux rapportés par Tamert et al. (2017), qui ont utilisé une extraction éthanolique.

En revanche, *C.siliqua* se distingue par la présence de saponines, flavonoïdes, phénols, coumarines, tanins et glycosides cardiaques. La présence de flavonoïdes et de polyphénols a également été rapportée dans les travaux de Darwish et al. (2021).

Pour *L. angustifolia*, l'extrait aqueux a révélé la présence de saponines, de phénols, de glycosides, de coumarines et de tanins, tandis que les flavonoïdes, les quinones, les terpénoïdes et les glycosides cardiaques étaient absents. Ces résultats sont en contradiction avec ceux de l'étude de Slimani et al. (2022), qui ont rapporté une richesse en flavonoïdes et en polyphénols.

IV.2.1 Dosage des composés phénoliques totaux

Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant l'acide gallique comme standard (Fig. IV.1). Les valeurs obtenues sont exprimées en mg EAG/g Extrait (Tableau IV.3). Les teneurs en polyphénols varient entre 84,56 et 139,77 mg EAG/g Extrait. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait aqueux de *T. vulgaris*, avec un taux de 139,77 mg EAG/g Extrait, par rapport aux extraits de *L. angustifolia* et *C. siliqua*, où nous enregistrons des teneurs de l'ordre de 101,15 et 84,56 mg EAG/g Extrait respectivement.

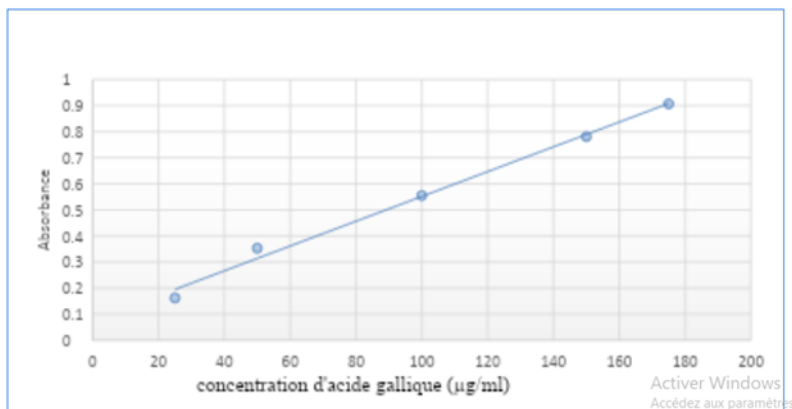


Fig. IV.1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau IV.3: Teneur en phénols totaux dans les extraits aqueux

	<i>C. siliqua</i>	<i>L. angustifolia</i>	<i>T. vulgaris</i>
TPC (mg EAG/g Extrait)	84,56±6,49	101,15±8,81	139,77±11,93

IV.2.2 Dosage des flavonoïdes :

La courbe d'étalonnage utilisant la quercétine comme standard (Fig. IV.2) a permis de calculer les concentrations des flavonoïdes totaux (Tableau IV.4), exprimées en mg d'équivalent de quercétine/g d'extrait. Les résultats ont montré que les extraits *L.angustifolia* et *T.vulgaris* ont des valeurs très proches de 21,9±2,95 et 20,9±1,45 mgQ/g Extrait respectivement.

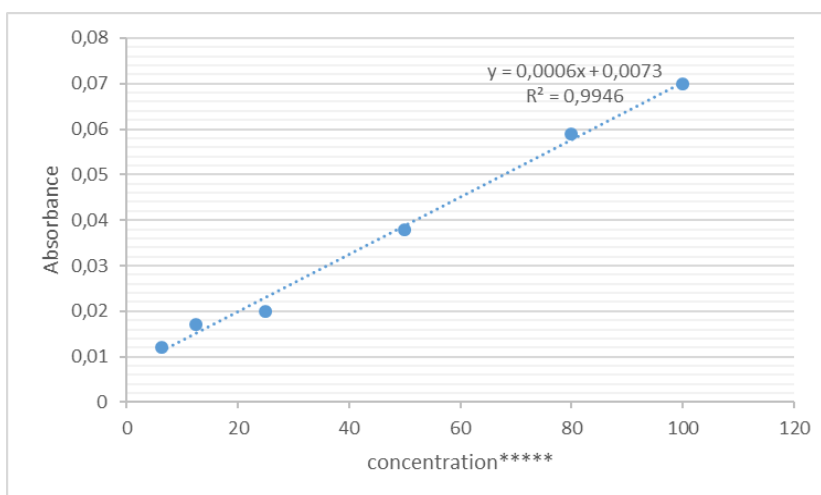


Fig. IV.2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Tableau IV.4 : Teneur en flavonoïdes dans les extraits aqueux

	<i>C.siliqua</i>	<i>L.angustifolia</i>	<i>T.vulgaris</i>
TF (mgQ/g)	ND	21,9±2,95	20,9±1,45
Extrait			

ND : non déterminé

IV.3 Activité antibactérienne

IV.3.1 Effet des antibiotiques standards sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

Les résultats représentés dans la figure (IV.3 et IV.4) montrent que l'Amoxiclavate présente une activité antibactérienne très élevée contre les deux souches bactériennes mais plus marquée contre *E. coli* (34 mm) par rapport à la *S. aureus* (20mm). La fosfomycine, quant à elle, se distingue par une efficacité bien définie et équivalente (31 mm) vis-à-vis des deux souches bactériennes. En revanche, la céfazoline démontre une activité plus faible, notamment contre *E. coli* (11 mm), bien qu'une légère augmentation de la zone d'inhibition soit observée avec *S. aureus* (17mm).

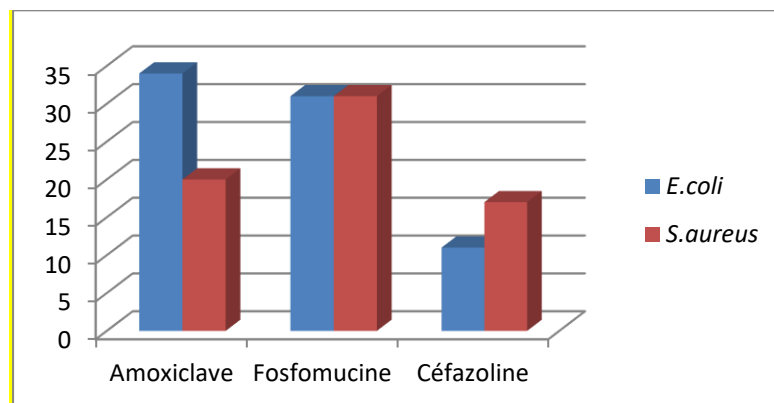
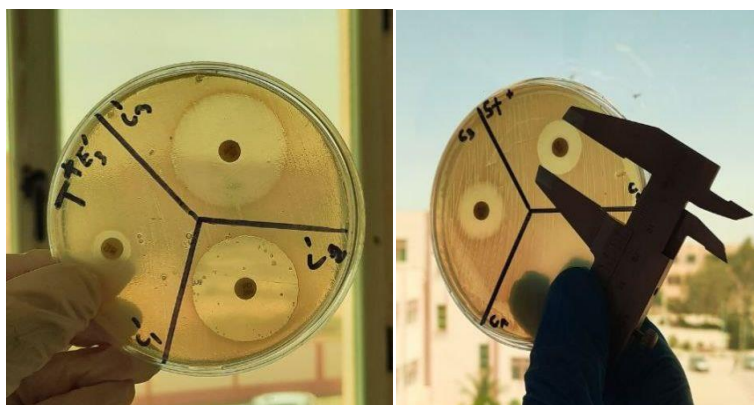
Fig. IV.3: Effet des antibiotiques standards sur *E. coli* et *S. aureus*

Fig. IV.4: Diamètres d'inhibition des antibiotiques

On peut déduire de ces observations que *S. aureus* et *E.coli* sont extrêmement sensible à la fosfomycine et à l'Amoxyclave.

Pour la fosfomycine, Ching-Lan Lu et al. (2011) ont révélé que les deux souches ont été très sensibles au fosfomycine. Alors la performance de cet antibiotique demeure confirmée.

A propos de céfazoline, une étude a été réalisée par Gern et al. (2018) sur 3992 isolats cliniques de méthicilline-susceptible *Staphylococcus aureus*(MSSA). a indiqué que toutes les souches étaient sensible à la céfazoline. Ces résultats diffèrent de nos propres observations.

IV.3.2 Effet des extraits aqueux sur *E. coli* et *S. aureus*

Les résultats obtenus à partir du test d'aromatogramme sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IV.5: Effet des extraits aqueux sur *E. coli* et *S. aureus*

	<i>T.vulgaris</i>			<i>C.siliqua</i>			<i>L.angustifolia</i>		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
<i>E. coli</i>	6,9	6,7	6,8	7,5	6,8	6,6	6,8	6,5	6,7
<i>S. aureus</i>	6,3	6,9	6,3	7	6	7,3	6,5	6,5	6,3

$C_1=500 \text{ mg/ml}$, $C_2=250 \text{ mg/ml}$, $C_3=125 \text{ mg/ml}$

Il apparait que les diamètres d'inhibition des extraits aqueux des trois plantes *T.vulgaris*, *C.siliqua* et *L.angustifolia* variant entre 6,3 et 7,5mm. Parmi ces dernières, *C.siliqua* présente des valeurs légèrement plus élevées que celle des deux autres plantes (pour toutes les concentrations concernant *E. coli* et au C3 pour *S. aureus*), ce qui signifie qu'elle a montré une légère activité antibactérienne contre les deux souches étudiées *E. coli* et *S. aureus*. Toutefois, cette différence reste insuffisante pour conclure à une efficacité réelle et significative.

Des études ont été réalisées sur les mêmes plantes, la plupart ont montré des résultats différents concernant le potentiel antibactérien, ce qui donne une base de comparaison; Parmi ces études, concernant le *T.vulgaris*, Mohammed et al. (2023) ont été rapportés qu'il n'y a aucun effet antibactérien de l'extrait aqueux chaud de *T.vulgaris* sur la bactérie *S. aureus*, ce qui en accord avec les valeurs trouvées dans notre étude. Par contre, selon Qureshi et al. (2022) et en s'appuyant sur la méthode de décoction, les résultats ont révélé une activité

antibactérienne très marquée avec des zones d'inhibition de 24 mm contre *E. coli* et 35 mm contre *S. aureus*.

Concernant *Ceratonia siliqua*, Darwish et al. (2021) ont mis en évidence une forte activité antibactérienne de l'extrait aqueux (décoction) des gousses de *Ceratonia* contre *S. aureus* et *E. coli*, avec des zones d'inhibition de 25 mm et 24 mm respectivement. À l'inverse, Benmansour et al. (2020) ont rapporté une activité plus modeste des extraits aqueux des graines de *C. siliqua*, avec des zones d'inhibition de 9 mm, ce qui se rapproche de nos résultats.

Pour *L. angustifolia*, selon Bensaad et al. (2016), l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de cette plante a été modérée car le diamètre d'inhibition varie entre 10-15 mm contre *E. coli* (selon la concentration) et entre 13-18 mm contre *S. aureus*. Ces résultats diffèrent considérablement de nos propres observations.

Ces écarts de résultats peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, dont certains ont déjà été mentionnés dans le contexte de leur impact sur le rendement, en complément à ces facteurs liés spécifiquement à l'activité antibactérienne, notamment les concentrations des extraits utilisées, les souches bactériennes testées et les conditions expérimentales de l'efficacité antibactériennes.

Après l'analyse des activités antibactériennes des extraits aqueux pris individuellement, il a été jugé pertinent d'examiner l'impact de leurs associations dans le but de déterminer si leur interaction pouvait amplifier l'effet inhibiteur.

IV.3.3 Effet combiné des extraits aqueux sur les souches bactériennes

Les résultats des associations des extraits, selon le Tableau IV.6 ont montré des diamètres d'inhibition variant entre 6,2 mm et 7,3 mm pour *E. coli*, et entre 6,4 mm et 7,0 mm pour *S. aureus*, selon les combinaisons et les concentrations testées.

Ces valeurs demeurent dans le même intervalle que celles obtenues avec les extraits pris individuellement, ce qui indique une absence d'effet additif ou potentialisateur de l'activité antibactériennes lors de l'association. Par conséquent, ces résultats suggèrent la nécessité de poursuivre les recherches en optimisant les conditions d'extraction et en comparant des échantillons de différentes origines afin d'évaluer plus précisément le potentiel antimicrobien de ces espèces végétales.

Tableau IV.6: Diamètres des zones d'inhibition des associations des extraits aqueux

	E ₁ +E ₃			E ₂ +E ₃			E ₁ +E ₂		
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₁	C ₂	C ₃	C ₁	C ₂	C ₃
<i>E. coli</i>	7	6,9	6,3	6,8	7,3	6,3	7	6,7	6,2
<i>S. aureus</i>	6,8	-	-	7	6,8	6,7	6,6	6,4	-

$C_1=500 \text{ mg/ml}$, $C_2=250 \text{ mg/ml}$, $C_3=125 \text{ mg/ml}$

Conclusion

Conclusion :

Les plantes à vertus médicinales et aromatiques font partie des ressources naturelles les plus prometteuses dans la bataille contre les bactéries résistantes aux antibiotiques. L'activité antibactérienne du thym (*Thymus vulgaris*), de la lavande (*Lavandula angustifolia*) et du caroubier (*Ceratonia siliqua*) a été examinée dans cette recherche, en se basant sur leurs extraits aqueux, contre deux germes pathogènes : *Escherichia coli*(ATCC 25922) et *Staphylococcus aureus*(ATCC 25923)

L'extraction par infusion a donné les valeurs suivantes: le *Ceratonia* a présenté le rendement le plus élevé avec 2,8 %, suivi du *Thymus vulgaris* avec 1,53 %, tandis que la *Lavandula angustifolia* a enregistré le rendement le plus faible avec 1,13 %.

L'analyse phytochimique des extraits aqueux a révélé une teneur élevée en composés phénoliques totaux, Les teneurs en polyphénols varient entre 84,56 et 139,77 mg EAG/g Extrait. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait aqueux de *T.vulgaris*, avec un taux de 139,77 mg EAG/g Extrait, par rapport aux extraits de *L.angustifolia* et *C.siliqua*, où nous enregistrons des teneurs de l'ordre de 101,15 et 84,56 mg EAG/g Extrait respectivement. Les résultats du dosage des flavonoïdes ont montré que les extraits *L.angustifolia* et *T.vulgaris* ont des valeurs de $21,9 \pm 2,95$ et $20,9 \pm 1,45$ mgQ/g Extrait respectivement.

Quant à l'évaluation de l'activité antibactérienne, Les observations ont indiqué que les trois extraits démontraient une activité inhibitrice face aux souches examinées. Ces diamètres varient entre 6,3 et 7,5mm. L'extrait de la caroube a démontré une action inhibitrice légèrement supérieure à celle des deux extraits de *T.vulgaris* et de *L.angustifolia*. Les résultats des associations des extraits ont indiqué une absence d'effet additif de l'activité antibactérienne.

La forte teneur en phénols totaux n'a pas été corrélée à une activité antimicrobienne marquée, ce qui laisse penser que la qualité des composés, leur nature, ou la présence d'antagonismes avec d'autres molécules pourraient limiter leur effet.

Bien que l'activité antimicrobienne des extraits étudiés soit faible, ces résultats n'excluent pas leur potentiel thérapeutique. Des travaux futurs pourraient inclure le fractionnement des extraits, le changement de solvants d'extraction, ainsi que des tests de synergie avec des

antibiotiques connus. Par ailleurs, l'exploration d'autres activités biologiques pourrait offrir de nouvelles perspectives d'utilisation de ces plantes.

Références bibliographiques:

1. Aafi, A. (1996). Note technique sur le caroubier (*Ceratoniasiliqua*). Maroc: Centre national de la recherche forestière. 10p
2. Albanell, E. (1990). Caracterización morfológica, composición química y valor nutritivo de distintas variedades de garrofa (*Ceratoniasiliqua* L.) cultivadas en España (Tesis doctoral). Universidad de Barcelona, España.
3. Ali-Shtayeh, M. S., Jamous, R. M., & Salameh, N. M. (2013). Complementary and alternative medicine (CAM) use among hypertensive patients in Palestine. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 19(4), 256–263.
4. Amico, F., & Sorce, E. (1997). Medicinal plants and phytotherapy in Mussomeli area (Caltanissetta, Sicily, Italy). *Fitoterapia*, 68(2), 143–159.
5. Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl_1), 5–16.
6. Anonymous. (2016). Antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
7. Aouati, H. (2009). Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthiciline: Étude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques (Mémoire de magister). Université Mentouri-Constantine, Algérie.
8. Asma, B., Meriem, H., & Rafika, L. (2022). Ethnobotanical knowledge and socio-economic importance of *Ceratoniasiliqua* L. (Fabaceae) in the North of Setif (North-East of Algeria). *Acta Ecologica Sinica*, 43(6), 712–720.
9. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
10. Battle, I., & Tous, J. (1997). Carob tree: *Ceratoniasiliqua* L.—Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research/International Plant Genetic Resources Institute.
11. Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493–496.

12. Benali, A., & Benali, W. (2020). Effet des techniques d'extraction sur le rendement et la teneur en composés phénoliques chez quelques Lamiacées utilisées en phytomédecine de la région de Sidi Bel Abbes (Thèse de doctorat).
13. Benmahioul, B., Harche, M. K., & Daguin, F. (2011). Le caroubier, une espèce méditerranéenne à usages multiples. *Forêt Méditerranéenne*, 32(2), 51–58.
14. Benmansour, N., Cherif, H., El Hanballi, F., & Akssira, M. (2020). Study of the biological activities of the seeds of the plant *Ceratoniasiliqua* L. recovered in the Bejaia Region. *Medical Technologies Journal*, 4(1), 520–521.
15. Bensaad, F. K., & Khalfoune, N. M. W. (2016). Recherche de l'activité antibactérienne de 3 extraits de *Lavandula angustifolia* (Mémoire de magister).
16. Biner, B., Gubbuk, H., Karhan, M., Aksu, M., & Pekmezci, M. (2007). Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratoniasiliqua* L.) in Turkey. *Food Chemistry*, 100(4), 1453–1455.
17. Boughendjioua, H. (2017). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *L. officinalis* cultivée dans la région de Skikda (Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 86, 88–95.
18. Brantner, A., & Grein, E. (1994). Antibacterial activity of plant extracts used externally in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 44(1), 35–40.
19. Brassesco, M. E., Brandão, T. R. S., Silva, C. L. M., & Pintado, M. (2021). Carob bean (*Ceratoniasiliqua* L.): A new perspective for functional food. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 310–322.
20. Canopy. (2025). Tree spotlight: Carob (*Ceratonia siliqua*). Canopy. Retrieved from Chu, C. J., & Kemper, K. J. (2001). Lavender (*Lavandula* spp.). Longwood Herbal Task Force.
21. <https://canopy.org>
22. Clovers Garden. (2025). English lavender 'Hidcote' (*Lavandula angustifolia*). Clovers Garden.
23. Darwish, W. S., Khadr, A. E. S., Kamel, M. A. E. N., AbdEldaim, M. A., El Sayed, I. E. T., Abdel-Bary, H. M., ... Ghareeb, D. A. (2021). Phytochemical characterization and evaluation of biological activities of Egyptian carob pods (*Ceratonia siliqua* .) aqueous extract: In vitro study. *Plants*, 10(12), 2626.

24. De Candolle, A. (1886). *Origine des plantes cultivées* (3e éd.). Paris: Ancienne Librairie Germer Baillière et Cie, Félix Alcan.
25. Dubale, S., Kebebe, D., Zeynudin, A., Abdissa, N., & Suleman, S. (2023). Phytochemical screening and antimicrobial activity evaluation of selected medicinal plants in Ethiopia. *Journal of Experimental Pharmacology*, 15, 51–62.
26. Elsherif, K. M., Ewlad-Ahmed, A. M. M., Alhlbad, E. A. A., & Iqneebir, A. M. (2023). Phytochemical screening, antioxidant capacity measurement, and mineral content determination of *Thymus vulgaris* L. extracts. *Walisongo Journal of Chemistry*, 6(2), 168–180.
27. Gern, B. H., Greninger, A. L., Weissman, S. J., Stapp, J. R., Tao, Y., & Qin, X. (2018). Continued in vitro cefazolin susceptibility in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 17(1), 5.
28. Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse* (Vol. 4). Springer.
29. Haddouchi, A., & Benmansour, A. (2008). Huiles essentielles: obtentions, utilisations et activités biologiques. *Les technologies de laboratoire*, 3(8), 1–12.
30. Hillcoat, D., Lewis, G., & Verdcourt, B. (1980). A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *Kew Bulletin*, 35(2), 261–271.
31. Iipumbu, L. (2008). Compositional analysis of locally cultivated carob (*Ceratonia siliqua*) cultivars and development of nutritional food products for a range of market sectors (Master's thesis). Stellenbosch University, South Africa.
32. Inserm. (2021, December 6). Résistance aux antibiotiques : un phénomène massif et préoccupant [Infographie]. Inserm.
33. Jiménez-Arellanes, A. (2006). *Thymus vulgaris* as a potential source of antituberculosis compounds. *Pharmacologyonline*, 3, 569–574.
34. Joffin, J. N., & Leyral, G. (2006). *Microbiologie technique: Dictionnaire des techniques* (1re éd.). Bordeaux: CRDP d'Aquitaine.
35. Kaderi, M., Hamouda, G. B., Zaeir, H., Hanana, M., & Hamrouni, L. (2015). Notes ethnobotaniques et phytopharmacologiques sur *Ceratonia siliqua* (L.). *Phytothérapie*, 13(2), 144–147.

36. Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123–140.
37. Khaled, B., Nahoui, N. E. H., Temmimi, K., Azine, K., Hali, L., & Fazouane, F. (n.d.). Screening phytochimique et activités biologiques d'extrait. [Unpublished manuscript].
38. Kosakowska, O., Bączek, K., Przybył, J. L., Pawełczak, A., Rolewska, K., & Węglarz, Z. (2020). Morphological and chemical traits as quality determinants of common thyme (*Thymus vulgaris* L.), on the example of 'Standard Winter' cultivar. *Agronomy*, 10(6), 90.
39. Kothe, H. W. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Paris: Tec & Doc.
40. Lachkar, N., Al-Sobarry, M., El Hajaji, H., Lamkinsi, T., Lachkar, M., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2016). Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua* L. methanol bark extract. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(3), 202–210.
41. Le Loir, Y., & Gautier, M. (2010). *Staphylococcus aureus*. Paris: Tec & Doc, Lavoisier.
42. Looock, E. (1940). The carob or locust tree (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of the South African Association*, 4, 78–80.
43. Lu, C.-L., Liu, C.-Y., Huang, Y.-T., Chen, C.-H., Teng, L. J., Turnidge, J. D., & Hsueh, P. R. (2011). Antimicrobial susceptibilities of commonly encountered bacterial isolates to fosfomycin determined by agar dilution and disk diffusion methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(9), 4295–4301.
44. Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). *Brock biology of microorganisms* (16th ed.). New York: Pearson.
45. Mainil, J. (2013). *Escherichia coli* virulence factors. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 152(1–2), 2–12.
46. Mebarki, N. (2010). Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne (Mémoire de magister). Université de Boumerdes, Algérie.
47. Mehdi, S. (2008). La fréquence des bactéries multirésistantes à l'hôpital Hassan II de Settat (Thèse de doctorat). Université Mohammed V, Rabat, Maroc.

48. Mekhoukhe, A., Kicher, H., Ladjouzi, A., Medouni-Haroune, L., Brahmi, F., Medouni-Adrar, S., & Madani, K. (2019). Antioxidant activity of carob seeds and chemical composition of their bean gum by-products. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 16(3), 158.
49. Merzouki, A., Ed-Derfoufi, F., El Aallali, A., & Molero-Mesa, J. (1997). Wild medicinal plants used by local Bouhmed population (Morocco). *Fitoterapia*, 68(5), 444–460.
50. Méthanolique obtenu à partir de la plante *Melissa officinalis* L. (2021). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 8(1), 1–10.
51. Mohammed, A. L., Alqatrani, W. H. A., & Jaber, N. N. (2023). Antimicrobial efficacy of *Thymus vulgaris* extract against some *Staphylococcus* species isolated from subclinical mastitis in cattle in Basrah province, Iraq. *Open Veterinary Journal*, 13(10), 1352–1358.
52. Mrabti, H. N., Jaradat, N., Kachmar, M. R., Ed-Dra, A., Ouahbi, A., Cherrah, Y., & Faouzi, M. E. A. (2019). Integrative herbal treatments of diabetes in BeniMellal region of Morocco. *Journal of Integrative Medicine*, 17(2), 93–99.
53. Levy, S. B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: Causes, challenges and responses. *Nature Medicine*, 10(12), S122–S129.
54. Ouhaddou, H., Boubaker, H., Msanda, F., & El Mousadik, A. (2014). An ethnobotanical study of medicinal plants of the Agadir Ida OuTanane province (Southwest Morocco). *Journal of Applied Biosciences*, 84, 7707–7722.
55. Vuillemin, P. (n.d.). Antibiose et symbiose. [Manuscrit non publié].
56. Qureshi, W., Saeed, F., Ajaz, M., & Rasool, S. A. (2022). In vitro antimicrobial, antibiofilm and antiphage activity of thyme (*Thymus vulgaris*). *Pakistan Journal of Botany*, 54(2), 660–666.
57. Rima, K. (2021). Morpho-ecological and phytochemical characterization of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) in Algeria (Thèse de doctorat). Université Ziane Achour, Djelfa, Algérie.
58. Rtibi, K., Selmi, S., Grami, D., Amri, M., Eto, B., El-Benna, J., Sebai, H., & Marzouki, L. (2017). Chemical constituents and pharmacological actions of carob pods and leaves (*Ceratonia siliqua* L.) on the gastrointestinal tract: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93, 522–528.

59. Sahin, G., & Taşlıgil, N. (2016). Agricultural geography analysis of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) from Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40(6), 1192–1200.
60. Sarker, S. D., Nahar, L., & Kumarasamy, Y. (2007). Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*, 42(4), 321–324.
61. Slimani, C., Sqalli, H., Farah, A., Lazraq, A., El Ghadraoui, L., Belmalha, S., & Echchgadda, G. (2022). Chemical composition and evaluation of biological effects of essential oil and aqueous extract of *Lavandula angustifolia* L. *Notulae Scientiae Biologicae*, 14(1), 11172.
62. Singleton, V. L., Ortofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. In L. Packer (Ed.), *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152–178). Orlando, FL: Academic Press.
63. Spicer, W. J. (2003). *Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie*. Paris: Flammarion Médecine-Sciences.
64. Tamert, A., Latreche, A., & Aouad, L. (2017). Criblage phytochimique et activité antimicrobienne des extraits de *Thymus serpyllum* et de *Thymus vulgaris* du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(6), 384–394.
65. Tinkysharma, Pandey, B., Shrestha, B. K., Maiyakoju, G., Nathusa, R., & Karki, N. (2020). Phytochemical screening of medicinal plants and study of the effect of phytoconstituents in seed germination. *Tribhuvan University Journal*, 35(2), 1–11.
66. Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175.
67. Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559.
68. Zohary, M. (1973). *Geobotanical foundations of the Middle East*. Stuttgart, Germany: Fischer.

Résumé

Ce travail vise à évaluer l'activité antibactérienne de trois plantes médicinales, à savoir *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia* et *Ceratoniasiliqua*. L'extrait aqueux a été préparé par infusion. Une analyse phytochimique a été réalisée : criblage phytochimique, dosage des phénols totaux et des flavonoïdes. L'activité antimicrobienne a été effectuée par la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats ont montré que la teneur en phénols totaux varie entre 84,56 et 139,77 mg EAG/g Extrait, et la teneur en flavonoïdes dans les extraits de *L. angustifolia* et *T. vulgaris* est égale à 21,9 et 20,9 mg Q/g Extrait respectivement. Le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 6,3 et 7,5 mm. L'extrait de la caroube a démontré une action inhibitrice légèrement supérieure à celle des deux extraits de *T. vulgaris* et de *L. angustifolia*. Les résultats des associations des extraits ont indiqué une absence d'effet additif de l'activité antibactérienne. Ces résultats suggèrent l'intérêt de poursuivre les recherches avec d'autres méthodes d'extraction et des techniques d'analyse plus avancées pour mieux exploiter le potentiel antibactérien de ces plantes.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Ceratoniasiliqua*, extraits aqueux, analyse phytochimique, activité antimicrobienne.

ملخص

يهدف هذا البحث إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لثلاثة نباتات طبية و هي: الزعتر، الخروب، والخزامى. جرى تحضير المستخلصات المائية بطريقة التسريب، ثم أُجري التحليل الكيميائي النباتي وفحص مكونات الفينولات والفلانويدات الكلية. أُقيم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة انتشار الأجار. أظهرت النتائج أن محتوى الفينولات الكلي تراوح بين 84.56 و 139.77 ملغ من مكافئ الفينول/غ من المستخلص، بينما بلغ محتوى الفلانويدات في مستخلصات الخروب، الزعتر، والخزامى على التوالي 21.9 و 20.9 ملغ من مكافئ الفلانويد/غ من المستخلص. أما أقطار مناطق التثبيط فكانت بين 6.3 و 7.5 مم، مع ملاحظة أن مستخلص الخروب أظهر نشاطاً تثبيطياً أعلى قليلاً مقارنة بمستخلصي الزعتر والخزامى. وتشير نتائج المزج بين المستخلصات إلى ضعف في النشاط المضاد للبكتيريا عند الجمع بينها. تُبرز هذه النتائج أهمية مواصلة البحث باستخدام طرق استخلاص أخرى وتقنيات تحليلية أكثر تطوراً، للاستفادة الأمثل من الإمكانيات المضادة للبكتيريا لهذه النباتات.

الكلمات المفتاحية: الزعتر، الخزامى، الخروب، المستخلصات المائية، التحليل الفيتوكيميائي النباتي، النشاط المضاد للميكروبات.

Abstract

This study aims to evaluate the antibacterial activity of three medicinal plants: *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia* and *Ceratonia siliqua*. Aqueous extracts were prepared by infusion, followed by phytochemical analysis and determination of total phenolic and flavonoid contents. The antimicrobial activity was assessed using the agar diffusion method. Results showed that the total phenolic content ranged from 84.56 to 139.77 mg gallic acid equivalents (GAE)/g of extract, while the flavonoid content in carob, common thyme, and lavender extracts was 21.9 and 20.9 mg quercetin equivalents (QE)/g of extract, respectively. The inhibition zone diameters ranged from 6.3 to 7.5 mm, with the carob extract exhibiting slightly higher inhibitory activity compared to thyme and lavender. Combination of the extracts indicated low synergistic antibacterial activity. These findings highlight the need for further investigation using alternative extraction methods and more advanced analytical techniques to better exploit the antibacterial potential of these plants.

Keywords: *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Ceratonia siliqua*, aqueous extracts, phytochemical analysis, antimicrobial activity.