



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des  
Sciences de la Terre  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques

Référence ..... /2025

## MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :

CHOUCHANE Fatiha      CHAOUCH KHOUANE Amel

## Activité antibactérienne des extraits bruts et des huiles essentielles de trois plantes

---

### Jury :

Mme.	GUELLATI Cherifa	Université Biskra	Président
Pr.	MOUSSI Abdelhamid	Université Biskra	Rapporteur
Dr	HEBAL Hakim	Université Biskra	Examinateur

Année universitaire : 2024/2025

## Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à sa réalisation.

Je remercie tout particulièrement mon directeur de mémoire, Monsieur le Professeur **Moussi Abdelhamid**, pour son encadrement précieux, sa patience, sa disponibilité constante et ses conseils avisés qui m'ont guidé tout au long de cette recherche. Sa rigueur scientifique et ses qualités humaines ont été pour moi une grande source de motivation.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance aux membres du jury, Madame le Professeur **Cherifa GUELLATI**, présidente du jury, ainsi que Monsieur le Professeur **Hakim HEBAL**, examinateur, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'évaluer ce travail et pour l'intérêt qu'ils y ont porté.

Mes vifs remerciements s'adressent également à l'ensemble des responsables et membres du laboratoire universitaire de l'**Université Mohamed Khider Biskra**. Je remercie tout spécialement « **Fatima, Sara, Walid, Abdallah, Alima et Fouzia** » pour leur précieux soutien et pour avoir mis à ma disposition les moyens et les conditions favorables à la réussite de cette étude.

## Dédicace

*To those who planted in my heart the seeds of strength and tenderness, to those who were my support in every moment, and my warmth in every winter... To those without whom I would not be who I am today, and this dream would not have come true. To my dear father, the unwavering pillar and the role model I proudly look up to... Your prayers, your gaze full of pride, were the greatest motivation in every moment of hardship. And to my beloved mother, the endless source of affection, the heart that embraced all my pain, your patience, your hugs, and your words... were the healing balm to my soul every time I faltered. To my grandparents who have left this world, yet whose memory still lights up my heart—May Allah have mercy on you and grant you paradise. Your prayers still follow me. To my beloved siblings: Mouatasem, Ikram, and Alaa, you have always been the beautiful rhythm of my days, the laughter that eased my burdens, and the shoulders I leaned on in times of need. And to my dearest friends... Aya, Ahlam, Timtim, and Hadjira... You were the sisters life chose for me, your laughter was my melody, your presence a lifeline through moments of stress and exhaustion.*

*To all of you... I dedicate this thesis. It is not merely the result of effort, But a story of support, and a piece of my heart—woven thanks to you*

## Dédicace

*C'est avec l'aide et la grâce de Dieu que j'ai achevé ce modeste travail.*

*Je dédie ce travail à la de mon père,*

*À la lumière qui a illuminé mon chemin, à l'être cher dont j'ai porté fièrement le nom, à mon premier professeur, l'homme qui s'est efforcé toute sa vie pour que nous soyons les meilleurs.*

*À ma chère mère,*

*la lumière de ma vie, qui a toujours veillé pour moi, qui a toujours été à mes côtés dans les moments de joie et de peine, dont les prières ont été le secret de ma réussite et de mon succès, et sans laquelle je n'aurais pas atteint cet accomplissement, ni pu réaliser mes rêves, que Dieu te soutienne et te récompense de tout ce qui est bon.*

*À mon cher frère,*

*Merci, pour ton soutien, et d'avoir toujours été à mes côtés.*

*À ma chère-sœur,*

*Qui ont été une source de soutien et d'amour et ont partagé avec moi les bons et les mauvais moments.*

*À mes chères amies : Chourouk, Roukia, Hadjer et Kanza,*

*Ceux qui ont rendu mon parcours universitaire plein de beaux souvenirs et de temps merveilleux.*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé.*

*Amel*

# Table des matières

## Table of Contents

Remerciements .....	
Dédicace.....	
Table des matières .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des figures .....	
Liste des abréviations.....	
Introduction générale.....	1
Partie bibliographique	
Chapitre 1 : Plantes médicinales.....	2
I. Définition des plantes médicinales.....	2
II. Importance des plantes médicinales .....	2
III. Principes actifs des plantes.....	2
III.1. Huiles essentielles.....	2
III.2. Flavonoides.....	3
III.3. Alcaloides.....	3
III.4. Mucilages végétaux.....	3
III.5. Résines.....	3
III.6. Saponosides.....	3
III.7. Tanins.....	4
IV. Méthodes d'extraction .....	4
Chapitre 2 : Huiles essentielles.....	6
I. Définition et propriétés générales des huiles essentielles.....	7
II. Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles.....	7
II.1. Action contre les agents pathogènes bactériens.....	7
II.2. Action contre les agents pathogènes fongique.....	8
III.3. Action contre les virus.....	8
III. Facteurs Affectant la Composition des Huiles Essentielles.....	8
III .2. Facteurs endogènes .....	8
III .2. Facteurs exogènes .....	9
Chapitre 3 : Activité antibactérienne des extraits végétaux.....	12
I. Avantages des extraits naturels .....	13

<b>II. Limites des extraits végétaux.....</b>	<b>13</b>
<b>III. Comparaison entre extraits bruts et huiles essentielles : .....</b>	<b>13</b>
<b>IV. Exemples d'études comparatives .....</b>	<b>14</b>
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>Chapitre 4 : Matériel et méthodes.....</b>	<b>16</b>
<b>I. Matériel biologique .....</b>	<b>17</b>
<b>I.1. <i>Citrus limon</i>.....</b>	<b>17</b>
<b>I.2. <i>Lawsonia inermis</i>.....</b>	<b>18</b>
<b>I.3. <i>Carthamus carduncellus</i>.....</b>	<b>20</b>
<b>I.4. Souche bactérienne testées.....</b>	<b>21</b>
<b>II. Méthodes d'extractions.....</b>	<b>21</b>
<b>II.1. Pour l'extrait.....</b>	<b>21</b>
<b>II.2. Pour l'huile.....</b>	<b>22</b>
<b>III. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactériennes .....</b>	<b>23</b>
<b>III.1. Méthode des disques.....</b>	<b>23</b>
<b>III.2. Détermination de CMI.....</b>	<b>23</b>
<b>III.3. Détermination de CMB.....</b>	<b>25</b>
<b>IV. Organisation des données.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.1. Analyse en composant principales.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.2. Classification hiérarchique.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.3. Analyse de similarité ANOSIM.....</b>	<b>26</b>
<b>IV.4. Analyse de contribution SIMPER.....</b>	<b>26</b>
<b>IV.5. Logiciel utilisé.....</b>	<b>26</b>
<b>Chapitre 5 : Résultats et discussion.....</b>	<b>27</b>
<b>I. Présentation des rendements .....</b>	<b>28</b>
<b>II. Zone d'inhibition .....</b>	<b>29</b>
<b>III. Résultats et interprétation de CMI.....</b>	<b>30</b>
<b>IV. Identification des groupes homogènes .....</b>	<b>32</b>
<b>IV.1. Analyse de similarité ANOSIM.....</b>	<b>35</b>
<b>IV.2. Analyse de contribution SIMPER.....</b>	<b>36</b>
<b>V. Comparaison avec autre travaux .....</b>	<b>38</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>41</b>

Bibliographie.....	42
Annexes .....	49
Résumés.....	55

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 : Méthodes d'extraction des extraits bruts et des huiles essentielles .....</b>	<b>4</b>
<b>Tableau 2 : Comparaison entre extraits bruts et huiles essentielles.....</b>	<b>13</b>
<b>Tableau 3 : Classification de <i>Citrus limon</i>.....</b>	<b>17</b>
<b>Tableau 4 : Classification de <i>Lawsonia inermis</i> .....</b>	<b>18</b>
<b>Tableau 5 : Taxonomie de <i>carthamus carduncellus</i>.....</b>	<b>20</b>
<b>Tableau 6 : Rendement d'extraction des extraits végétaux selon la plante utilisée .....</b>	<b>28</b>
<b>Tableau 7 : Zones d'inhibition bactérienne des extraits et huiles essentielles selon lesconcentration .....</b>	<b>29</b>
<b>Tableau 8 : Evaluation de CMI et de l'effet antibactérien de sextrai ttestés .....</b>	<b>32</b>
<b>Tableau 9 : Résultats du test ANOSIM (valeurs R, p-value, distances intra/inter-groupes) .....</b>	<b>37</b>
<b>Tableau 10 : Résultats de l'analyse SIMPER : contribution des souches bactériennes ..</b>	<b>39</b>

## **Liste des figures**

<b>Figure 1 : Microdillution en microplaque des extraits de <i>L.inermis</i> et huile <i>C.limon</i>....</b>	<b>24</b>
<b>Figure 2 : Rendement d'extraction des plantes sélectionnées .....</b>	<b>28</b>
<b>Figure 3 : Effet des doses d'huile de citron sur l'inhibition des souches bactériennes....</b>	<b>31</b>
<b>Figure 4 : Effet des doses d'extrait de henné sur l'inhibition des souches bactériennes..</b>	<b>31</b>
<b>Figure 5 : Projection des échantillons selon l'ACP.....</b>	<b>34</b>
<b>Figure 6 : Dendrogramme issu de CHA.....</b>	<b>35</b>
<b>Figure 7 : Représentation boxplot des distance intra/inter groupe (ANOSIM).....</b>	<b>37</b>

## Liste des abréviations

**ACP / PCA** = Analyse Composantes Principales

**CHA** = Classification Hiérarchique Ascendante

**ANOSIM** = ANalyse Of SIMilarity

**SIMPER** = Analyse de contribution SIMilarity PERcentages

**PAST** = PAleontological STatistics

**MHA** = Mueller Hinton Agar

**DMSO** = Diméthylsulfoxyde

**CMI** = Concentration Minimale Inhibitrice

**CMB** = Concentration Minimale Bactéricide

**HE** = Huile Essentielle

**pH** = Potentiel Hydrogène

**BMH** = Bouillon Mueller Hinton

**HPLC** = High-Performance Liquid Chromatography

**HPLC-DAD** = High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection.

## Introduction générale

Les origines de l'interaction entre l'humanité et le règne végétal remontent à la nuit des temps. Longtemps avant le développement de la médecine moderne, les civilisations anciennes exploitaient déjà les végétaux non seulement pour se nourrir, mais surtout comme sources de traitements naturels. Au cours des millénaires, cette connaissance empirique a été transmise et perfectionnée, constituant un authentique patrimoine de soins. Nos ancêtres, qui étaient de fins observateurs de la nature, ont initialement conféré aux plantes des qualités mystiques avant de découvrir peu à peu leurs véritables propriétés curatives (Wichtl et Anton, 2003).

Aujourd'hui, alors que le monde médical est confronté à la montée inquiétante des résistances bactériennes aux antibiotiques, ce savoir ancestral trouve un écho particulièrement fort. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, on considère cette situation comme une « menace majeure pour la santé publique mondiale » (OMS, 2020). Dans ce cadre, l'exploration de solutions de substitution, performantes et pérennes, est désormais une priorité scientifique. La phytothérapie, qui est le traitement par les plantes (Boukhobza et Goetz, 2014), apparaît donc comme une solution encourageante. Ceci est principalement dû à la diversité chimique du règne végétal et à ses principes actifs qui ont souvent la capacité de déjouer les processus habituels de résistance (Hallal, 2011).

Les huiles essentielles et les extraits bruts, qui regorgent de métabolites secondaires à fort pouvoir antimicrobien, font partie des substances végétales les plus scrutées. Leurs modes d'action sont diversifiés, touchant aux membranes cellulaires des microorganismes, entravant la production de protéines ou perturbant les fonctions enzymatiques vitales. Ces effets, généralement synergiques, octroient aux composés végétaux une importance thérapeutique considérable (Rao *et al.*, 2019).

Dans cette perspective, le présent travail se penche sur l'effet antibactérien de certains extraits bruts et huiles essentielles provenant de plantes médicinales fréquemment utilisées dans la tradition algérienne. Notamment, *Citrus limon* (citron), *Lawsonia inermis* (henné) et *Carthamus carduncellus* ont été choisies pour tester leur efficacité contre diverses souches bactériennes, y compris celles qui présentent une multirésistance. Cette recherche, faisant appel à une méthode expérimentale et à des études statistiques multivariées, aspire à trouver des substituts végétaux valables aux antibiotiques traditionnels tout en approfondissant notre compréhension des facteurs qui influencent leur efficacité.

L'objectif de notre travail consiste à étudier l'activité antibactérienne d'extraits bruts et d'huiles essentielles issus de plantes médicinales (*Citrus limon*, *Lawsonia inermis* et *Carthamus carduncellus*) sur différentes souches bactériennes.

Notre travail sera organisé en deux parties : le premier est purement théorique rassemble des trois chapitres sur les plantes et huiles essentielles aussi activité antibactérienne des extraits végétaux. Le deuxième est expérimental consacré aux méthodes utilisées pour évaluation l'activité antibactérienne et les analyses statistiques aussi mentionne les différents résultats obtenus avec une discussion.

# Partie bibliographique

# **Chapitre 1 :**

# **Plantes médicinales**

## I. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont celles dont l'ensemble ou une partie (feuilles, tiges, fleurs, fruits, écorces, racines) ou encore leurs sécrétions contiennent des substances actives utilisées pour traiter les maladies, avec un effet notable sur le maintien de la santé physique et mentale de l'être humain. Ces plantes peuvent également être utilisées comme compléments alimentaires, arômes, colorants, pesticides naturels ou même en médecine vétérinaire. Les parties utilisées varient : certaines plantes sont utilisées en entier, comme l'armoise ou l'herbe de la Saint-Jean séchée, tandis que d'autres n'en requièrent qu'une partie, comme le ginseng, le datura ou les racines de baume, ou encore nécessitent l'extraction de principes actifs, comme la quinine. La majorité de ces plantes possèdent non seulement une valeur médicinale, mais aussi une beauté particulière à travers leurs feuilles, fleurs ou fruits, et certaines sécrètent des substances procurant une sensation de bien-être (Lin et Mai, 2020).

## II. Importance des plantes médicinales

Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans le maintien de la santé humaine et végétale grâce à leurs composés bioactifs. Elles sont utilisées depuis l'Antiquité dans les médecines traditionnelles pour traiter diverses maladies. Moins agressives que les médicaments de synthèse, elles provoquent généralement moins d'effets secondaires. De nombreuses substances pharmaceutiques modernes, comme la morphine ou la quinine, en sont issues. En agriculture, leurs extraits offrent des alternatives écologiques aux pesticides chimiques. Elles représentent aussi un secteur économique en pleine croissance, témoignant d'une riche tradition médicinale à travers les civilisations (Rehman *et al.*, 2021).

## III. Principes actifs des plantes

Un principe actif est une substance chimique qui présente un intérêt médical, utilisée pour prévenir ou traiter des maladies chez l'homme ou l'animal. Il est naturellement présent dans les plantes médicinales ou dans des préparations dérivées de celles-ci (Pelt, 1980).

### III.1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés aromatiques volatils, responsables de l'odeur spécifique des plantes. Elles sont produites dans des structures sécrétoires particulières (Iserin *et al.*, 2001). Ces substances jouent un rôle de protection contre l'excès de rayonnement solaire et servent à attirer les insectes pollinisateurs (Dunstan *et al.*, 2013). Elles sont couramment utilisées pour traiter des affections inflammatoires comme les allergies, l'eczéma, ainsi que pour apaiser certains troubles digestifs (Iserin *et al.*, 2001). De plus, elles

sont largement employées dans les secteurs cosmétique et agroalimentaire (Kunkele et Lobmeyer, 2007).

### **III.2. Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des pigments naturels qui donnent leur couleur aux feuilles, aux fleurs et aux fruits. On distingue principalement trois grandes familles : les flavonols, les flavanones et les flavones (Kunkele et Lobmeyer, 2007). Ils possèdent des propriétés antibactériennes (Wichtl et Anton, 2009). Grâce à leurs nombreuses vertus, ils sont intégrés dans divers produits cosmétiques, alimentaires et pharmaceutiques, en particulier ceux qui exploitent leurs effets anti-inflammatoires et antiviraux (Iserin *et al.*, 2001).

### **III.3. Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés, de nature basique, dérivés d'acides aminés. Généralement, leur nom est lié à la plante dont ils proviennent (Kunkele et Lobmeyer, 2007). Ils se caractérisent par une activité biologique marquée, pouvant être thérapeutique ou toxique. Leur efficacité a permis le développement de nombreux médicaments (Ali-Delille, 2013).

### **III.4. Mucilages végétaux**

Les mucilages sont des polysaccharides naturellement présents dans la majorité des plantes. Lorsqu'ils sont en contact avec l'eau, ils gonflent pour former une matière visqueuse similaire à la gélatine. Ils ont un effet apaisant sur les muqueuses enflammées. Leur lente élimination par le système digestif leur permet de créer une barrière protectrice sur la paroi de l'estomac irrité, ce qui aide à contrer les effets de l'acidité gastrique et à soulager la constipation. Le lin fait partie des plantes les plus riches en mucilages (Grunwald *et al.*, 2006).

### **III.5. Résines**

Issues de l'écorce et du bois de certains arbres, notamment tropicaux, les résines sont des substances organiques non volatiles. Elles apparaissent après une blessure de l'écorce, sous forme d'un liquide épais, collant, inflammable, insoluble dans l'eau, et de couleur jaune ou brune. Les résines sont reconnues pour leurs propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires, particulièrement efficaces dans le traitement des inflammations intestinales, comme celles traitées avec la myrrhe (Iserin, 2001).

### III.6. Saponosides

Les saponosides sont des composants majeurs de plusieurs plantes médicinales, connus pour leur capacité à produire de la mousse et à agir comme émulsifiants efficaces. Leur fonction principale est de fluidifier des substances solides. On distingue deux grands types de saponines : les stéroïdiennes, dont la structure est proche de celle des hormones humaines, et les triterpénoïdes, dont l'activité hormonale est plus faible mais qui possèdent des effets bénéfiques sur la digestion et l'expectoration, comme la glycyrrhizine trouvée dans la réglisse (Iserin, 2001).

### III.7. Tanins

Substances polyphénoliques amères, les tanins sont largement présents dans diverses plantes. Ils se lient aux protéines pour resserrer les tissus, formant ainsi une couche protectrice. Grâce à cette propriété, ils sont largement utilisés pour soulager les troubles digestifs tels que la diarrhée, les ulcères ou encore les hémorroïdes. Un exemple bien connu est la soupe blanche (Iserin, 2001).

## IV. Méthodes d'extraction

L'extraction des principes actifs végétaux repose sur une diversité de techniques, choisies en fonction de la nature des composés visés et de l'usage prévu. Le tableau ci-dessous présente les principales méthodes utilisées pour l'obtention des extraits bruts et des huiles essentielles. Chaque procédé est brièvement décrit avec ses applications courantes et ses références bibliographiques.

**Tableau 1 : Méthodes d'extraction des extraits bruts et des huiles essentielles**

Technique	Description du procédé	Application	Références
<b>Maceration</b>	Cette technique consiste à hacher ou broyer le matériel végétal, le faire tremper dans un solvant, et le laisser à température ambiante pendant une longue période.	Préparation d'huiles aromatisées, de teintures, en parfumerie et en phytothérapie.	(Keyes <i>et al.</i> , 2024)
<b>Hydrodistillation</b>	Le matériel végétal est immergé dans l'eau et chauffée jusqu'à ébullition, les composés volatils s'évaporent avec la vapeur d'eau, puis sont condensés et séparés.	Extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques	(Barros <i>et al.</i> , 2022)

<b>Percolation</b>	Utilise un flux continu de solvant à travers le matériel végétal, permettant l'extraction en mouvement, idéale pour une production à grande échelle.	Préparation d'extraits à base de plantes et de boissons.	(Bylappa <i>et al.</i> , 2024)
<b>Infusion</b>	Extraction de composés à partir de feuilles, fleurs, etc., en les infusant dans de l'eau chaude ou un autre solvant.	Préparations de tisanes et d'infusions culinaires.	González-Hernández <i>et al.</i> , 2024)
<b>Décoction</b>	Fait bouillir des parties dures de plantes (racines, écorces, graines) dans l'eau pendant une longue période.	Méthode traditionnelle utilisée en médecine.	Bhadange <i>et al.</i> , 2024)
<b>Distillation à la vapeur</b>	Production de vapeur pour chauffer le matériel végétal, évaporant les composés volatils, puis condensation en huiles essentielles ou composés aromatiques.	Technique principale dans l'extraction d'huiles essentielles pour la parfumerie et les cosmétiques.	(Chan <i>et al.</i> , 2024)
<b>Pression à froid</b>	Extraction mécanique des huiles sans utiliser de chaleur ni de solvants.	Extraction des huiles essentielles pour arômes, parfumerie et cosmétique.	(Rashd <i>et al.</i> , 2024)
<b>Extraction Soxhlet</b>	Extraction continue avec un solvant chauffé, évaporé, condensé puis ramené sur l'échantillon jusqu'à l'extraction complète.	Extraction de lipides, huiles, et composés bioactifs à partir de plantes.	(Pinto <i>et al.</i> , 2024)
<b>Digestion</b>	L'échantillon est immergé dans un solvant chauffé pendant un certain temps à température contrôlée pour dissoudre les composés.	Extraction de composés solubles à partir de matrices solides, utile dans l'alimentation.	(Bitwell <i>et al.</i> , 2023)
<b>Extraction par reflux</b>	Le solvant est chauffé avec l'échantillon sous conditions de reflux, le solvant s'évapore, se condense et retourne à l'extraction.	Extraction des composés stables thermiquement à partir de plantes médicinales.	(Navarrete-Carriola <i>et al.</i> , 2024)

# **Chapitre 2 :**

# **Huiles essentielles**

## I. Définition et propriétés générales des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits naturels très concentrés, obtenus à partir de différentes parties des plantes telles que les fleurs, les feuilles, les racines, les écorces ou les graines. Leur extraction se fait principalement par distillation à la vapeur ou par pression mécanique, selon la nature de la plante. Ces huiles renferment une variété de composés volatils, comme les terpènes et leurs dérivés, responsables de leurs caractéristiques olfactives et de leurs effets biologiques.

Sur le plan physico-chimique, chaque huile essentielle possède des propriétés spécifiques telles que la densité, l'indice de réfraction et la solubilité, qui permettent d'évaluer sa qualité et son authenticité (Bouhatem *et al.*, 2013).

Du point de vue biologique, elles se distinguent par leurs actions antimicrobiennes, antifongiques, antioxydantes et anti-inflammatoires. Cela explique leur utilisation dans plusieurs domaines, notamment la santé, la cosmétique et la conservation alimentaire (Gbenou, 1999).

Sur le plan thérapeutique, les huiles essentielles sont utilisées en aromathérapie pour soulager le stress, améliorer l'humeur et traiter certaines affections mineures. Elles font aussi partie intégrante de nombreuses pratiques médicinales traditionnelles (Nabti, 2025).

## II. Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles

Les plantes aromatiques et médicinales (MAPs) contiennent plusieurs types de constituants chimiques ayant des propriétés antimicrobiennes. Ces composés sont synthétisés pour protéger les plantes contre les agents pathogènes microbiens. Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles (HE) dépendent principalement de leurs constituants chimiques et de la quantité de composés majoritaires spécifiques. Ces composés sont sécrétés à travers une série d'interactions moléculaires sous des conditions de stress biotique ou abiotique. Chaque composé peut présenter un mécanisme d'action différent contre les microbes.

### II.1. Action contre les agents pathogènes bactériens

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer l'action antibactérienne des huiles essentielles :

- Perturbation de la membrane cellulaire : elles déstabilisent la structure cellulaire, provoquant la perte d'intégrité membranaire, une perméabilité accrue, et une altération de fonctions cellulaires vitales.
- Nature lipophile facilitant leur pénétration à travers les membranes bactériennes.
- Perturbation du potentiel membranaire, des pompes à protons, et épuisement de l'ATP intracellulaire.
- Inhibition de la sécrétion de toxines, altération des protéines membranaires, et effet sur la synthèse de protéines comme la flagelline.
- Certains composés comme le carvacrol, le thymol, le menthol et l'eugénol influencent directement les membranes et enzymes cellulaires (Swamy *et al.*, 2016).

## **II.2. Action contre les agents pathogènes fongiques**

Les mécanismes antifongiques sont similaires à ceux antibactériens :

- Coagulation des composants cellulaires suite à des dommages membranaires.
- Altération de la chaîne de transport d'électrons dans les mitochondries.
- Perturbation du potentiel membranaire, fuite d'électrolytes et déclenchement de l'apoptose ou nécrose cellulaire (Swamy *et al.*, 2016)

## **II.3. Action contre les virus**

Les HE peuvent agir contre les virus en :

- Interférant avec l'enveloppement viral et empêchant l'entrée dans la cellule hôte.
- Inhibant la synthèse de protéines virales et l'expression génique.
- Perturbant les processus de réPLICATION virale (ex : ADN polymérase).
- Les huiles de mélisse, thym, gingembre, hysope et bois de santal montrent une efficacité contre des souches virales résistantes (Swamy *et al.*, 2016)

## **III. Facteurs Affectant la Composition des Huiles Essentielles**

### **III .1. Facteurs endogènes**

Les facteurs endogènes sont liés aux caractéristiques propres de la plante, notamment le site de production et d'accumulation des huiles essentielles, l'âge de la plante, ainsi que ses caractéristiques génétiques qui régulent le métabolisme secondaire. De plus, les conditions

environnementales peuvent influencer l'ADN des plantes aromatiques, entraînant ainsi des variations chimiques et même des différences génétiques.

### **III .1.1. Partie de la plante utilisée**

La partie de la plante utilisée pour l'extraction des huiles essentielles est considérée comme un facteur endogène important, car elle est directement liée à la structure anatomique et aux fonctions physiologiques de la plante. Les huiles essentielles peuvent être localisées dans différentes parties selon les espèces, telles que les feuilles, les fleurs, les tiges, les racines ou même les écorces. La nature et la localisation des structures sécrétrices varient également d'une espèce à une autre.

Plusieurs études ont montré que la composition chimique des huiles essentielles varie considérablement en fonction de la partie de la plante utilisée, chaque organe pouvant contenir des proportions différentes de composés actifs (Barra, 2009).

### **III .1.2. Âge de la plante et des tissus végétaux**

L'âge de la plante peut influencer la composition des huiles essentielles, bien que cet effet soit parfois moins marqué que celui des facteurs environnementaux. Chez certaines plantes, les jeunes individus produisent des huiles dont la composition diffère de celles produites à un stade plus avancé de développement.

En outre, la maturité des tissus végétaux (jeunes ou vieux) joue également un rôle important. Certaines molécules peuvent être présentes uniquement dans les tissus récents, tandis que d'autres se développent dans des tissus plus âgés ou en décomposition.

La dynamique de production des composés peut évoluer au cours du développement des organes végétaux, certains composés augmentant rapidement à un stade précis, puis se stabilisant à maturité (Barra, 2009).

## **III .2. Facteurs exogènes**

Les facteurs exogènes tels que la lumière, les précipitations, le site de croissance (altitude, latitude) et la nature du sol (pH, composition) sont liés à l'environnement et influencent fortement la composition chimique des huiles essentielles produites par les plantes.

### III .2.1. Lumière, précipitations, site de croissance et sol

La lumière joue un rôle clé dans l'augmentation de la concentration de certaines substances secondaires, comme les monoterpènes et les phénylpropanoïdes, car plusieurs enzymes impliquées dans leur biosynthèse sont dépendantes des rayons UV-B. D'un autre côté, la disponibilité en eau influence le métabolisme secondaire étant donné que les réactions de biosynthèse ont lieu dans un milieu aqueux. Une augmentation de l'eau peut stimuler la production de certaines molécules volatiles, même si dans certains cas, des stress hydriques modérés peuvent également provoquer une accumulation accrue de certains composés. L'altitude influence aussi la composition chimique, les plantes poussant en altitude produisent souvent des huiles différentes de celles poussant en plaine. La latitude joue un rôle semblable, avec une variation dans les profils chimiques selon les zones géographiques, par exemple avec une prédominance de composés lourds comme les sesquiterpènes dans certaines zones tropicales.

La nature du sol a également un impact : son pH, sa texture, ou sa teneur en minéraux peut modifier significativement la composition des huiles essentielles. Par exemple, les sols acides peuvent favoriser la biosynthèse de certains composés au détriment d'autres, alors que les sols calcaires ou siliceux peuvent induire des profils chimiques totalement différents, avec une dominance de monoterpènes dans un cas et de sesquiterpènes dans l'autre.

En résumé, les effets des facteurs environnementaux sur les huiles essentielles sont complexes, spécifiques à chaque plante, et dépendent souvent de l'interaction de plusieurs conditions écologiques en même temps (Abdelmohsen et Elmaidomy, 2025).

### III .2.2. Variation saisonnière

Les variations saisonnières de la composition chimique des huiles essentielles sont généralement liées à une combinaison de facteurs comme les précipitations, la température et la lumière.

Des études récentes visent à optimiser les rendements et à déterminer la meilleure période de récolte en fonction des composés d'intérêt biologique, thérapeutique ou commercial.

En général, certaines plantes produisent des huiles plus riches en composés actifs au début de la floraison. Durant l'hiver, certains composés diminuent tandis que d'autres augmentent, traduisant une modification dans les voies métaboliques.

Dans les zones tropicales, les différences entre saisons humides et sèches peuvent être plus subtiles, mais restent présentes.

Cela démontre que la composition chimique des huiles essentielles est le résultat de l'interaction de plusieurs facteurs, et non d'un seul paramètre isolé. Ces facteurs modifient les voies métaboliques et peuvent entraîner des variations importantes (Abdelmohsen et Elmaidomy, 2025).

### **III .2.3. Écotypes et chimiotypes chez les plantes**

Les différences environnementales peuvent générer des écotypes, c'est-à-dire des populations de la même espèce vivant dans des conditions écologiques différentes. Ces variations peuvent mener à la formation de chimiotypes, qui se définissent par des profils chimiques distincts dans les huiles essentielles.

L'écotype est souvent désigné avant analyse, en se basant sur la localisation géographique. Après analyse chimique, on peut identifier un chimiotype lorsque des différences marquées apparaissent dans les métabolites secondaires.

Le problème, c'est qu'il n'existe pas encore de système de classification universel des chimiotypes. Certains chercheurs les définissent selon le composé principal de l'huile essentielle, mais dans de nombreux cas, plusieurs composés majeurs coexistent. C'est pourquoi certains auteurs suggèrent de classifier les huiles selon l'ensemble des composants dominants dépassant un certain seuil (par exemple 20%), ou encore selon les voies biosynthétiques impliquées.

Ces classifications sont utiles pour les études chémotaxonomiques, et permettent une meilleure compréhension de la diversité chimique au sein d'une même espèce végétale (Abdelmohsen et Elmaidomy, 2025).

# **Chapitre 3 :**

## **Activité antibactérienne des extraits végétaux**

## I. Avantages des extraits naturels

Les extraits végétaux possèdent plusieurs avantages :

- Diversité chimique : les plantes produisent naturellement une grande variété de métabolites secondaires (flavonoïdes, tanins, saponines, alcaloïdes, etc.) qui agissent souvent de manière synergique contre les bactéries (Burt, 2004).
- Moindre résistance bactérienne : l'action multicro cible limite l'apparition de résistances comparativement aux antibiotiques classiques (Cowan, 1999).
- Origine renouvelable et biodégradable : les extraits naturels sont respectueux de l'environnement et issus de ressources renouvelables

## II. Limites des extraits végétaux

Malgré leurs avantages, les extraits végétaux présentent plusieurs contraintes :

- Variabilité de composition selon la plante, la saison, le sol ou la méthode d'extraction (Bouyahya *et al.*, 2017).
- Faible stabilité : les extraits aqueux ou hydroalcooliques sont sensibles à la lumière, la chaleur et à l'oxydation.
- Faible concentration en principes actifs comparée aux formes concentrées comme les huiles essentielles.
- Propriétés organoleptiques parfois désagréables, et toxicité à hautes doses pour certaines molécules.

## III. Comparaison entre extraits bruts et huiles essentielles :

**Tableau 2 : Comparaison entre extraits bruts et huiles essentielles**

Critères	Extraits bruts	Huiles essentielles
Méthode d'extraction	Macération, infusion, décoction	Distillation à la vapeur
Concentration en actifs	Faible à modérée	Très élevée
Spectre antibactérien	Large, souvent modéré	Large, puissant
Stabilité	Faible	Élevée
Toxicité	Faible	Potentielle (dermo-caustique, toxique par ingestion)

#### **IV. Exemples d'études comparatives**

Une étude menée par Bozin *et al.* (2007) a comparé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* avec son extrait aqueux. Les résultats ont montré une inhibition plus importante de *Staphylococcus aureus* par l'huile essentielle, en raison de sa teneur en 1,8-cinéole et camphre.

De même, les extraits hydroalcooliques de *Azadirachta indica* (neem) ont montré une efficacité modérée contre les bactéries, tandis que l'huile essentielle de neem présente une activité antibactérienne plus prononcée (Biswas *et al.*, 2002).

# Partie expérimentale

# **Chapitre 4 :**

# **Matériel et méthodes**

## I. Matériel biologique

### I.1. Citron : *Citrus limon* (L.) Burm.f.,1768

#### A. Description

Le citron (ou citron jaune) est un agrume, fruit du citronnier (*Citrus limon*). Il en existe deux types : le citron doux, principalement utilisé à des fins ornementales, contenant peu ou pas d'acidité, bien qu'il soit classé sous l'espèce *Citrus limon* (L) Burm.f.,1768, et le citron acide, le plus répandu aujourd'hui, dont le jus présente un pH avoisinant les 2,5. À maturité, la couleur de son écorce varie du vert clair au jaune vif sous l'effet du froid. Sa période de récolte se situe entre la fin de l'automne et le début de l'hiver dans l'hémisphère nord. Sa pulpe est très juteuse, et le citron acide est particulièrement riche en vitamine C. Grâce à cette richesse et à sa bonne capacité de conservation, il s'est largement diffusé à travers le monde.

#### B. Origine

Le mot « citron » trouve son origine dans la langue persane. En anglais, il est appelé "lemon". Originaire du continent asiatique, sa culture s'est étendue à plusieurs pays comme l'Italie, les États-Unis, l'Espagne, la Grèce, l'Argentine, ainsi qu'à de nombreuses régions d'Asie et d'Europe. Le citronnier appartient au règne végétal, au genre des agrumes à fleurs, qui fait partie des angiospermes. Ses fruits sont de forme ovale, deviennent jaunes à maturité, et l'arbre peut atteindre une hauteur de 3 à 6 mètres (Hanifa, 2022).

#### C. Systématique

Selon Cronquist (1982), la classification qu'occupe *Citrus limon* dans la systématique est la suivante:

**Tableau 3 : classification de *Citrus limon***

Rang taxonomique	Classification
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Citrus</i>

Espèce	<i>Citrus limon</i>
--------	---------------------

## I.2. Henné : *Lawsonia inermis* L., 1753

*Lawsonia inermis* est un petit arbuste ou un petit arbre à écorce brun grisâtre. *Lawsonia inermis* appartient à la famille des *Lythraceae*, qui comprend environ 500 espèces largement répandues dans les régions tropicales, avec relativement peu d'espèces dans les régions tempérées.

*Lawsonia inermis*, communément appelée *henné* (en arabe « حناء »), est généralement considérée comme originaire d'Afrique et d'Asie. Elle est largement cultivée dans les régions tropicales du monde, notamment au Soudan, en Égypte, en Chine et en Inde.

Les feuilles de henné sont utilisées depuis des siècles comme colorant pour les ongles, les mains, les cheveux et les textiles. Le henné est également employé pour traiter les problèmes de peau, les maux de tête, la jaunisse, l'amibiase et l'hypertrophie de la rate.

Les feuilles de henné peuvent aussi être mâchées pour soigner les ulcères buccaux et les inflammations de la langue et des gencives chez les poulets, et elles peuvent être ajoutées aux aliments pour faire baisser la fièvre (Musja *et al.*, 2011).

### A. Description

Le henné est un arbuste de grande taille ou un petit arbre, atteignant 2,6 m de hauteur. Il est glabre, à multiples ramifications avec des rameaux épineux à l'extrémité.

Les feuilles sont opposées, entières, glabres, subsessiles, elliptiques et largement lancéolées (1,5–5,0 cm x 0,5–2 cm), avec un apex acuminé et des nervures déprimées sur la surface dorsale.

Les fleurs de henné possèdent quatre sépales et un tube calicinal de 2 mm avec des lobes étalés de 3 mm. Les pétales sont obovés, de couleur blanche ou rouge, et les étamines, insérées par paires sur le rebord du calice.

L'ovaire est tétraloculaire, avec un style dressé de 5 mm de long. Les fruits sont de petites capsules brunâtres, mesurant 4 à 8 mm de diamètre, contenant 32 à 49 graines par fruit, et s'ouvrant de manière irrégulière en quatre fentes (Yadav *et al.*, 2013).

### B. Classification

La classification taxonomique permet de situer *Lawsonia inermis* dans le règne végétal selon les critères scientifiques. Le tableau ci-dessous résume les principaux rangs taxonomiques de cette espèce.

**Tableau 4 : Classification de *Lawsonia inermis***

Rang taxonomique	Classification
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Myrales
Famille	Lythraceae
Genre	<i>Lawsonia</i>
Espèce	<i>Lawsonia inermis</i>

### C. Composition biochimique

Selon Borade *et al.* (2011), *Lawsonia inermis* contient plusieurs constituants phytochimiques, notamment des flavonoïdes, des coumarines, des triterpénoïdes, des stéroïdes et des xanthones. L'examen phytochimique quantitatif des feuilles a révélé une teneur en cendres (Jain *et al.* 2010). Des niveaux détectables de biomolécules et de composés phytochimiques ont été trouvés dans les extraits alcooliques et aqueux.

Elansary *et al.* (2020) ont identifié, à l'aide de la méthode HPLC-DAD, plusieurs polyphénols dans les extraits méthanoliques des feuilles de *L. inermis*, bien que présents à des concentrations supposées faibles.

D'après les résultats HPLC obtenus à partir des extraits de différentes parties de la plante, il a été observé que *L. inermis* contient du 2-hydroxy-1,4-naphtoquinone (Oda *et al.* 2018). D'autres sources rapportent que toutes les parties de la plante contiennent des quantités importantes de polyphénols (Babili *et al.* 2013).

Il aurait également été isolé davantage de dérivés de naphtoquinone à partir des feuilles de *Lawsonia inermis* (Yang *et al.* 2017 ; Hien *et al.* 2010).

De plus, Tuan *et al.* (2022) ont isolé 12 composés de *Lawsonia inermis* L. Il s'agit de : rubinaphthine B ; 9(11),12-oléanadiène-3β-ol ; 11,13(18)-oléanadiène-3β-ol ; catéchine ; afzéline ; acide augustique ; acide 1β,2α,3α,19α-tétrahydroxy-12-ursène-28-oïque ; suavissimoside R1 ; lawsone ; β-sitostérol ; 1-tridécanol ; et 1-pentadécanol.

Les flavonoïdes isolés de la plante comprennent l'apigénine, l'apigénine-7-glucoside et d'autres dérivés, la lutéine, le kaempférol, la quercétine, l'isoscutellarine, la tricine, la kaempférine, l'isoquercitrine, la catéchine (-), la 4'-hydroxyflavanone, la 3,7,4',5'-

tétrahydroxy-6-méthoxyflavone, la 7,3-diméthoxy-6,8-diméthylflavone et la 3,5'-hydroxyflavone (Iqbal *et al.* 2017).

### **I.3. *Carthamus carduncellus* (L.,1753)**

#### **A. Description**

*Carthamus carduncellus* une espèce décrite pour la première fois par Carolus Linnaeus en 1753 dans son ouvrage majeur *Species plantarum*, appartient à la famille des Asteraceae, sous-famille des Carduoidea. Ce taxon est parfois également désigné sous le nom de *Carduncellus monspelliensis*, considéré comme un synonyme ou une espèce étroitement apparentée selon certaines classifications modernes. Cette confusion taxonomique s'explique par la proximité morphologique et génétique entre les genres *Carthamus* et *Carduncellus* (Vilatersana *et al.*, 2000 ; García-Jacas *et al.*, 2006).

Sur le plan morphologique, *Carthamus carduncellus* est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle de petite taille (5 à 20 cm de hauteur), à port général épineux. Ses feuilles sont profondément divisées, se terminant par des dents épineuses, et présentent un limbe rigide. Les fleurs, disposées en capitules violet à pourpre foncé de 20 à 30 mm de diamètre, sont entourées de bractées également épineuses. Le fruit est un akène renfermant une seule graine, souvent couvert de soies fines et formant des têtes globuleuses caractéristiques (Pignatti, 1982; Talavera *et al.*, 1999).

#### **B. Origine**

Originaire de la région méditerranéenne occidentale, *Carthamus carduncellus* est notamment présent en Algérie, où il est répertorié comme espèce indigène des flores steppiques et méditerranéennes. On le retrouve également dans le sud de la France (notamment en Languedoc), en Italie et en Espagne, particulièrement dans les milieux calcaires et les zones rocheuses (Ozenda, 1995 ; Jeanmonod et Gamisans, 2007).

#### **C. Classification**

**Tableau 5 : Taxonomie de *carthamus carduncellus***

Rang taxonomique	Classification
Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermae
Ordre	Asterales

Famille	Asteraceae
Sous-famille	Carduoideae
Tribu	Cardueae
Sous-tribu	Centaureinae
Genre	Carthamus
Espèce	<i>Carthamus carduncellus</i>

#### I.4. Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25422 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27953), Ce sont des souches référenciées qui ont été fournies par établissement public hospitalier Ahmed Ben Bella de willaya de khenchla.

Ainsi qu'une souche clinique de *Staphylococcus aureus* d'origine humaine, a été fournie par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital Hakim Saâdane à Biskra.

### II. Méthodes d'extractions

#### II.1. Extraits bruts

##### II.1.1. *Lawsonia inermis* (Henné)

Pour préparer l'extrait végétal, commencez par mélanger 50 g de matériel végétal avec 500 mL d'éthanol à 50 %. Pour le calcul du rendement à partir de duplicitas, vous pouvez utiliser 25 g de matériel végétal avec 250 mL d'éthanol, puis répéter l'extraction deux fois. Le mélange est ensuite mis sous agitation pendant 24 heures à température ambiante. Une fois ce temps écoulé, filtrez le mélange à l'aide de papier filtre afin de séparer le liquide du résidu solide.

Le filtrat obtenu est ensuite réparti dans des boîtes de pétrie, puis placé dans des étuves ventilées pour le séchage. Après séchage, les boîtes sont pesées régulièrement jusqu'à stabilisation du poids. Enfin, le résidu sec est gratté des boîtes et conservé dans des bouteilles sombres, à l'abri de l'humidité, afin de préserver la qualité de l'extrait obtenu.

##### II.1.2. *Carthamus carduncellus*

###### II.1.2.1. Extraction à chaude

### A. Extraction par Soxhlet

D'extraction utilisant l'éthanol à 75% Le solvant utilisé était un mélange composé de 75% d'éthanol et de 25 % d'eau distillée (v/v). Environ 20 grammes de matière végétale ont été placés dans la cartouche de l'appareil Soxhlet, et 75 ml de la solution d'éthanol à 75 % ont été introduits dans le ballon inférieur. L'appareil a été chauffé doucement jusqu'à ce que 5 à 6 cycles d'extraction soient complétés. À la fin de l'extraction, l'extrait a été récupéré et placé dans une étuve à 45 °C pendant quelques minutes afin d'évaporer le solvant. Cette extraction est désignée par : (code : EtOH, chaud 75% New C.M.)

### B. Décoction

50 g de plante sont placés dans un ballon à reflux contenant 100 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement, l'extrait aqueux obtenu est mis en étuve pour être séché, ce qui permet d'obtenir l'extrait sec." (Code : Décoction/1 C.M)

## II.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles à partir de la pâte d'agrumes a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Pour ce faire, 100 g de résidus ont été placés dans un ballon contenant un litre d'eau distillée. L'opération d'hydrodistillation a duré trois heures. L'huile essentielle récupérée à l'issue du processus a été soigneusement collectée, puis conservée dans un flacon opaque à 4 °C, à l'abri de la lumière. En parallèle, l'hydrolat obtenu a été transféré dans des flacons en verre ambré et stocké dans un endroit frais et sombre. Le liquide résiduel de l'hydrodistillation, ainsi que les écorces, ont été valorisés sous forme d'extrait aqueux. Celui-ci a été filtré, puis séché dans des boîtes de Petri à l'aide d'une étuve ventilée à 40 °C. L'extrait brut ainsi obtenu a été conservé à température ambiante pour une utilisation future.

### II.2.1. Extraction hydro-éthanoïque

L'extrait hydro-éthanoïque a été préparé en suivant une méthode de macération : 10 g de pâte et d'écorces ont été immergés dans 100 mL d'un solvant composé d'un mélange eau-éthanol (40 % v/v), le tout soumis à une agitation constante à 90 °C pendant 15 minutes. Cette opération a été répétée trois fois. Les filtrats obtenus ont été combinés, puis concentrés par évaporation sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à 40 °C. L'extrait brut

ainsi obtenu a été ensuite séché dans une étuve ventilée à 40 °C, dans des boîtes de Pétri, avant d'être stocké à température ambiante jusqu'à son utilisation.

Il est à signaler que cette partie du travail a été réalisée à partir de l'huile essentielle de *Citrus limon* et de l'extrait brut de *Carthamus carduncellus*, préalablement préparés par le Dr. Deghima Amirouche et le Dr. Zeroual Samir.

### **III. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactériennes**

#### **III.1. Méthode des disques :**

Pour évaluer l'effet des huiles essentielles et des extraits bruts sur les souches bactériennes, la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton (MH) est utilisée. Des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre sont imprégnés avec 15 µl -20µl de chaque dilution de l'extrait. Un disque est réservé pour le témoin négatif, constitué de 10 µl de DMSO, et un autre pour le témoin positif contenant de la streptomycine. Les cultures bactériennes utilisées sont âgées de 24 heures. Le milieu MH est ensemencé avec une suspension bactérienne standardisée à  $10^6$  UFC/ml, ajustée à une densité optique comprise entre 0,1 et 0,2 à une longueur d'onde de 620 nm, conformément au standard de Mc Farland (Goldman et Green, 2008).

Les boîtes de Petri contenant les souches bactériennes sont incubées à 37°C pendant 24 heures, une durée suffisante pour permettre la colonisation complète de la gélose, selon Gilbert et Woods (2006). Chaque essai, y compris les témoins, est réalisé trois fois dans les mêmes conditions.

Expérimentales. À la fin de l'incubation, l'activité antimicrobienne des extraits et des huiles essentielles est déterminée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (Annexe : 3)

#### **III.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

##### **III.2.1. Méthodologie de détermination de la concentration minimale inhibitrice**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits végétaux a été déterminée par microdilution en microplaqué, en mesurant la densité optique (DO) à 620 nm à l'aide d'un lecteur de microplaqué. Chaque souche bactérienne a été exposée à une série de concentrations d'extrait (1 à 10), réparties dans les puits d'une microplaqué 96 puits selon CLSI (2020).

Dans le premier puits, on ajoute stérilement 50 µl d'huile essentielle de citron, et 150 µl de bouillon Mueller-Hinton (BMH) stérile. Les puits 2 à 10 reçoivent chacun 100 µl de BMH stérile.

Une série de dilutions successives est réalisée immédiatement : 100 µl du contenu du puits 1 est transféré dans le puits 2, bien mélangé, puis 100 µl de ce dernier est transféré dans le puits suivant, et ainsi de suite jusqu'au puits 10. Le contenu du puits 10 est ensuite éliminé.

Étant donné que les huiles essentielles ne se mélangent pas naturellement à l'eau ni au milieu de culture, une émulsion est réalisée à l'aide de DMSO afin de faciliter le contact entre la bactérie et l'huile essentielle. Ce choix s'explique par le fait que, selon Gachkar *et al.* (2006) cité dans Bouguerra (2012), le DMSO n'a pas d'activité antibactérienne significative.

Ensuite, on ajoute 100 µl d'un inoculum bactérien dilué au 1/100 (contenant environ  $10^6$  UFC/ml) dans chaque puits, afin d'obtenir une concentration finale de  $5 \times 10^5$  UFC/ml.

La 11ème colonne, contenant uniquement 300 µl de BMH, sert de témoin négatif. La 12ème colonne, quant à elle, contient 100 µl d'inoculum et de 200 µl de BMH, et joue le rôle de témoin positif. Les différents échantillons bactériens sont espacés par des lignes de puits vides pour éviter toute contamination croisée.

La même méthode a été utilisée pour le test avec l'extrait de henné, sur la même microplaqué.

Est couverte et incubée à 37°C pendant 24h (Balouiri *et al.* 2016).



**Figure 1 :** micro dilution en microplaqué des extraits de *L.inermis* et huile de *C.limon*

Pour des informations plus détaillées veuillez consulter (Annexe 5).

### **III.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration d'huile essentielle capable d'éliminer 99,9 % des cellules bactériennes. Après avoir déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI), seules les concentrations d'huile essentielle supérieures à la CMI (ne montrant aucune croissance bactérienne) ont été utilisées pour évaluer la CMB. À cet effet, un échantillon de chaque puits sans croissance visible a été prélevé et ensemencé sur des boîtes de Pétri contenant 20 mL de milieu GN Agar. Ces boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Cette méthode permet de déterminer si les cellules bactériennes sont encore viables et capables de se développer (selon les normes EUCAST, 2003) (Annexe 6).

## **IV. Organisation des données**

Les données exploitées pour les analyses statistiques multivariées correspondent aux diamètres moyens (en millimètres) des zones d'inhibition mesurées pour différentes souches bactériennes, soumises à divers extraits de plantes et huiles essentielles à plusieurs concentrations. Chaque ligne du tableau représente une combinaison spécifique extrait/concentration, tandis que chaque colonne correspond à une souche bactérienne testée. L'ensemble des analyses a été réalisé à l'aide du logiciel PAST version 1.37 (Hammer *et al.*, 2001).

### **IV.1. Analyse en Composantes Principales (ACP)**

L'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée afin de réduire la complexité des données et de mettre en évidence d'éventuels regroupements ou structures cachées parmi les traitements, en fonction de leurs profils d'activité antibactérienne. Cette méthode permet une représentation des données dans un plan bidimensionnel, facilitant l'interprétation des proximités ou distinctions entre échantillons (Hammer, 2024).

L'ACP a été appliquée directement sur la matrice des diamètres d'inhibition, sans transformation préalable. Les deux premières composantes principales, expliquant ensemble plus de 96 % de la variance totale, ont été retenues pour l'analyse.

### **IV.2. Classification Hiérarchique Ascendante (CHA)**

Afin de valider les regroupements observés via l'ACP, une classification hiérarchique ascendante (CHA) a été réalisée en utilisant la méthode de liaison complète (complete linkage) avec la distance euclidienne comme critère de similarité (Hammer, 2024). Le dendrogramme généré a permis de visualiser les regroupements d'échantillons, et un seuil de coupe fixé a été utilisé pour définir les groupes distincts.

#### **IV.3. Analyse de similarité (ANOSIM)**

L'analyse ANOSIM (ANalysis Of SIMilarities) a été mise en œuvre pour comparer statistiquement les profils d'activité antibactérienne des deux extraits jugés les plus efficaces : *Lawsonia inermis* et *Citrus limon*. Cette méthode non paramétrique évalue les différences entre groupes en comparant les distances intra- et intergroupes, à l'aide d'un test de permutation (999 permutations) et du coefficient R (Hammer, 2024).

Une variable "Group" a été ajoutée à la matrice pour spécifier l'appartenance de chaque traitement à l'un des deux groupes. La distance de Bray-Curtis a été utilisée comme mesure de dissimilarité.

#### **IV.4. Analyse de contribution (SIMPER)**

L'analyse SIMPER (SIMilarity PERcentage) a été utilisée pour déterminer quelles souches bactériennes contribuent le plus aux différences observées entre *Lawsonia inermis* et *Citrus limon*. Cette méthode calcule la contribution individuelle de chaque souche à la dissimilarité moyenne entre les deux groupes (Hammer, 2024).

Les résultats sont présentés sous forme de tableau indiquant la dissimilarité moyenne, le pourcentage de contribution de chaque souche, ainsi que les valeurs moyennes des diamètres d'inhibition pour chaque groupe.

#### **IV.5. Logiciel utilisé**

Toutes les analyses ont été réalisées avec le logiciel PAST version 1.37 (PAleontological STatistics), développé par Ø. Hammer et accessible gratuitement via le Musée d'Histoire Naturelle de l'Université d'Oslo. Ce logiciel est particulièrement adapté aux analyses multivariées en biologie et écologie (Hammer *et al.*, 2001).

# **Chapitre 5 :**

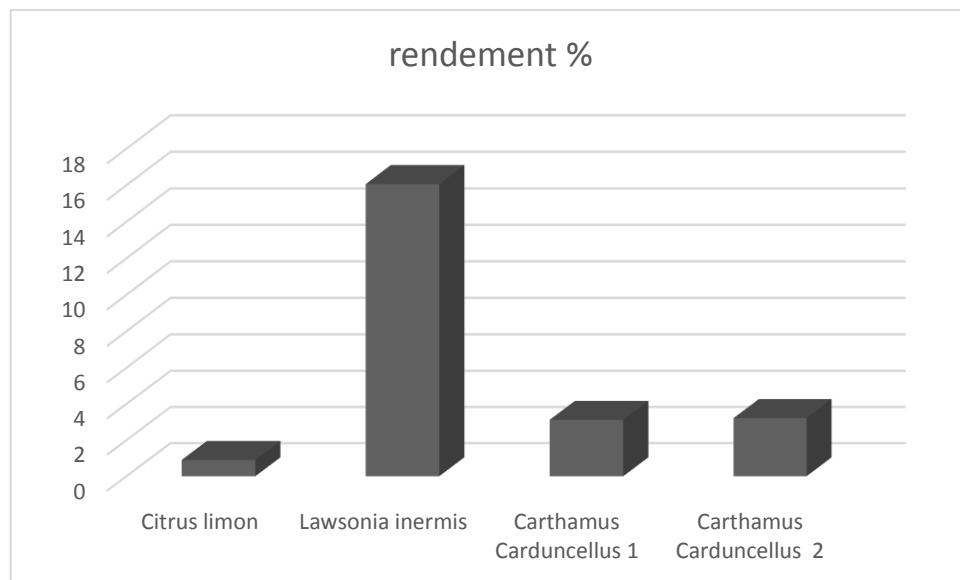
# **Résultats et Discussion**

## I. Présentation des rendements

Pour calculer le rendement d'extraction d'un extrait végétal, on se base sur la relation entre la quantité initiale de la plante utilisée et la quantité d'extrait récupérée après le processus d'extraction. Ce rendement est généralement exprimé en pourcentage, ce qui permet d'évaluer l'efficacité de l'extraction et de comparer les résultats entre différents échantillons ou différentes méthodes d'extraction. Cet indicateur donne une première idée sur la richesse du matériel végétal en composés extractibles, et aide le chercheur à évaluer la performance de la méthode utilisée, qu'elle soit traditionnelle (macération, décoction, etc.) ou moderne (extraction assistée par ultrasons, micro-ondes, etc.). Il est également utilisé pour comparer des résultats expérimentaux entre différentes espèces végétales ou pour une même espèce cultivée dans des conditions environnementales variées.

**Tableau 6 : Rendement d'extraction des extraits végétaux selon la plante utilisée**

Plante	Quantité(g)	Quantité extraite (g)	Rendement %
<i>Citrus limon</i>	100	0,9	0,9%
<i>Lawsonia inermis</i>	50	8,03	16,06%
<i>Carthamus carduncellus 1</i>	50	1,56	3,12%
<i>Carthamus carduncellus 2</i>	20	0,645	3,22%



**Figure 2 : Rendement d'extraction des plantes sélectionnées**

## II. Zone d'inhibition

On a étudié le pouvoir antibactérien d'extraits obtenus à partir du henné (*Lawsonia inermis*) de la région de Biskra et de *Carthamus carduncellus* all de la région de Mila et du citron (*Citrus limon*) de la région de N'Gaous.

Ce pouvoir a été évalué contre quatre souches bactériennes, deux Gram-négatives et deux Gram-positives, par la méthode de diffusion en disque sur milieu gélosé de Mueller-Hinton.

La sensibilité des bactéries vis-à-vis des huiles essentielles de *Citrus limon*, et des extraits de *Lawsonia inermis*, *Carthamus Carduncellus* all (1 et 2) est classée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit :

- Non sensible :  $\leq 6$  mm
- Sensible : entre 9 et 14 mm
- Très sensible : entre 15 et 19 mm
- Extrêmement sensible :  $\geq 20$  mm

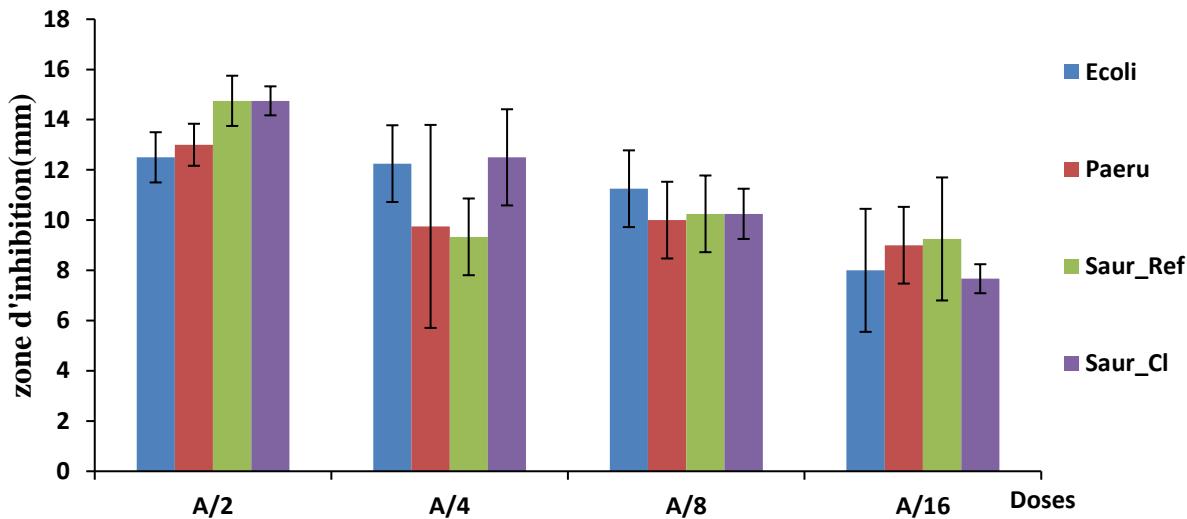
À l'issue des résultats du tableau ci-dessus, on constate que : Les bactéries testées montrent une sensibilité variable selon le type d'huile essentielle utilisée. L'huile essentielle de *Citrus limon* s'est révélée modérément active, en particulier contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres allant jusqu'à 14 mm, indiquant une sensibilité allant de sensible à très sensible selon la concentration.

Les extraits de *Lawsonia inermis* ont présenté une activité antibactérienne plus marquée, notamment sur *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* Cl, avec des zones atteignant 14 à 16 mm, ce qui les classe comme très sensibles.

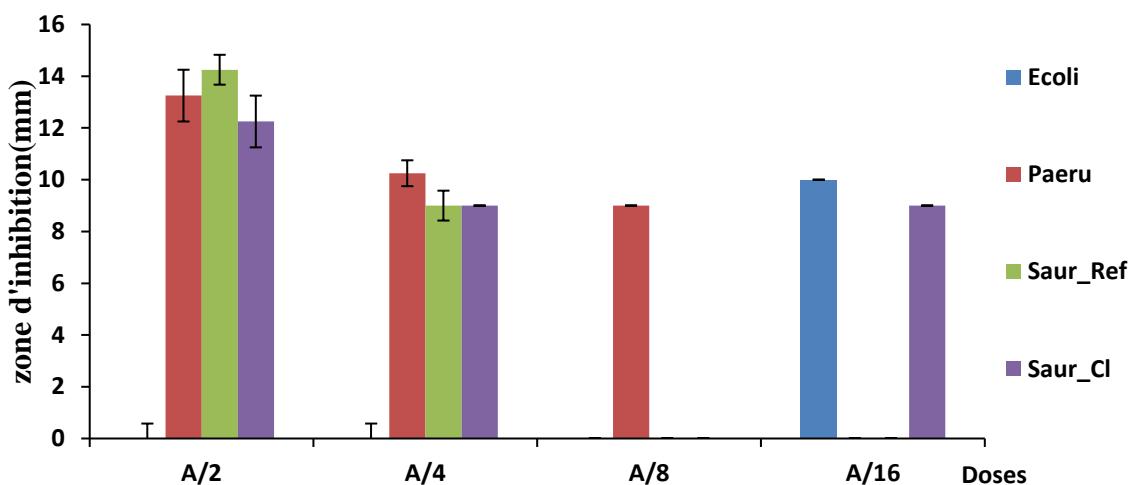
En revanche, les extraits de *Carthamus carduncellus* 1 et *Carthamus carduncellus* 2 ont montré une activité antibactérienne très faible voire nulle, avec des diamètres d'inhibition n'excédant pas 2 mm, indiquant une absence d'effet notable sur les souches testées.

Il est à noter que les bactéries Gram positives et Gram négatives sont affectées par les huiles essentielles, bien que les Gram positives (notamment *Staphylococcus aureus*) semblent

plus sensibles, surtout avec *Lawsonia inermis* et *Citrus limon*. Ces résultats suggèrent que *Citrus limon* et *Lawsonia inermis* pourraient représenter des alternatives naturelles prometteuses aux antibiotiques, tandis que *Carthamus carduncellus* nécessite peut-être d'autres formes d'extraction ou combinaisons pour révéler un potentiel antibactérien significatif.



**Figure 3 :** Effet des doses d'huile de citron sur l'inhibition des souches bactériennes



**Figure 4 :** Effet des doses d'extrait de henné sur l'inhibition des souches bactériennes

### III. Résultats et interprétation des CMI

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits testés a été réalisée par mesure de la densité optique (DO) à 620 nm, à l'aide d'un lecteur de microplaques. Chaque extrait (produit A à H) a été testé à différentes concentrations (C1 à C10), en présence d'une souche

bactérienne, et comparé à un témoin positif (croissance sans extrait) et un témoin négatif (milieu stérile sans bactérie). La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été estimée comme étant la plus faible concentration pour laquelle la DO chute significativement, indiquant une inhibition visible de la croissance bactérienne.

### Tableau synthétique

**Tableau 7 : Evaluation de CMI et de l'effet antibactérien des extraits testés**

Produit	CMI estimée	DO minimale observée	Témoin + (DO)	Témoin - (DO)	Interprétation
A	Aucune	0.329 – 0.8	0.38	0.698	Pas d'inhibition
B	C4 – C5	0.084 – 0.109	0.462	0.702	Inhibition nette
C	Aucune	$\geq 0.274$	0.848	0.824	Croissance active
D	C4	0.102	0.841	0.384	Inhibition nette
E	C1 – C2	0.282 – 0.298	1.174	0.479	Inhibition partielle aux faibles doses
F	C3 – C4	0.079 – 0.082	1.024	1.255	Inhibition forte
G	C2	0.295	0.932	1.319	Inhibition modérée
H	C2 – C3	0.072 – 0.077	0.835	0.461	Inhibition nette

L'analyse des données a permis d'obtenir les résultats suivants :

- **Produit A** : Aucune inhibition n'a été observée. La DO reste relativement élevée (supérieure à 0.3) pour toutes les concentrations testées, ce qui indique une croissance bactérienne active. La valeur obtenue est comparable à celle du témoin positif (0.38), confirmant l'absence d'effet antimicrobien de cet extrait.
- **Produit B** : Une inhibition nette a été observée dès la concentration C4 (DO = 0.084) et confirmée à C5 (DO = 0.109). Ces valeurs sont nettement inférieures à celle du témoin positif (0.462), ce qui suggère une bonne efficacité de l'extrait. La CMI peut être estimée à **C4 ou C5**.
- **Produit C** : Cet extrait n'a montré aucune activité inhibitrice significative. Les valeurs de DO sont restées élevées (entre 0.27 et 0.9), y compris aux faibles concentrations, ce qui indique une croissance bactérienne continue.
- **Produit D** : Une baisse importante de la DO a été constatée à la concentration C4 (0.102), indiquant une inhibition marquée de la croissance. Au-delà de cette concentration, la DO augmente progressivement. La CMI est donc estimée à **C4**.

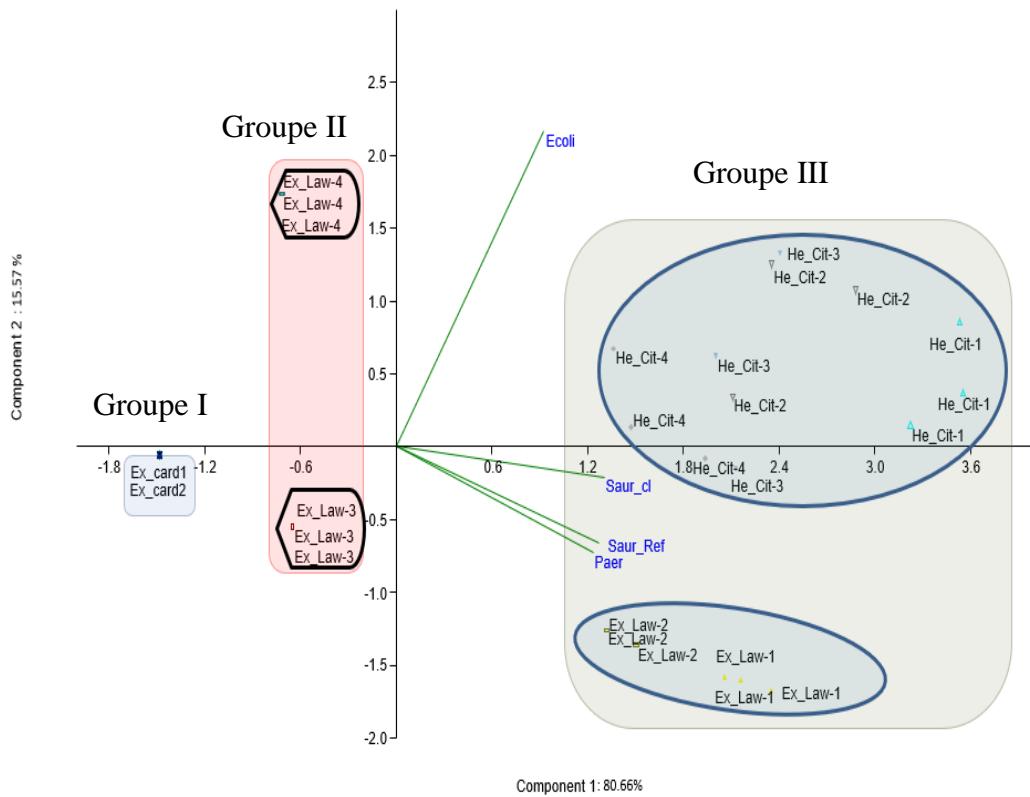
- **Produit E :** Les premières concentrations (C1 et C2) présentent des valeurs de DO relativement basses (0.282 et 0.298 respectivement), suggérant une inhibition partielle. Cependant, la DO augmente rapidement dès C3 ( $>0.79$ ), ce qui pourrait refléter une reprise de la croissance ou une efficacité limitée de l'extrait. La CMI est estimée à **C1 ou C2**, avec un effet transitoire.
- **Produit F :** Une forte inhibition est observée à C3 (0.082) et C4 (0.079), très inférieures au témoin positif (1.024). La croissance reprend aux concentrations plus élevées. La CMI est estimée à **C3 ou C4**.
- **Produit G :** Une activité antimicrobienne modérée est visible à C2 (DO = 0.295), suivie d'une augmentation progressive de la croissance. La CMI est estimée à **C2**, bien que l'inhibition soit moins marquée que pour d'autres extraits.
- **Produit H :** L'extrait présente une activité intéressante, avec une DO très faible à C2 (0.072) et C3 (0.077), traduisant une inhibition nette de la croissance bactérienne. La CMI est donc estimée entre **C2 et C3**.

En conclusion, parmi les extraits testés, les produits **B, D, F, G, et H** ont montré une activité antimicrobienne significative, avec des CMI comprises entre les concentrations **C2 et C5**. En revanche, les produits **A et C** n'ont présenté aucun effet inhibiteur notable, ce qui suggère leur inefficacité dans les conditions expérimentales. Le produit **E** a montré une inhibition partielle aux faibles concentrations, mais son effet semble transitoire ou limité.

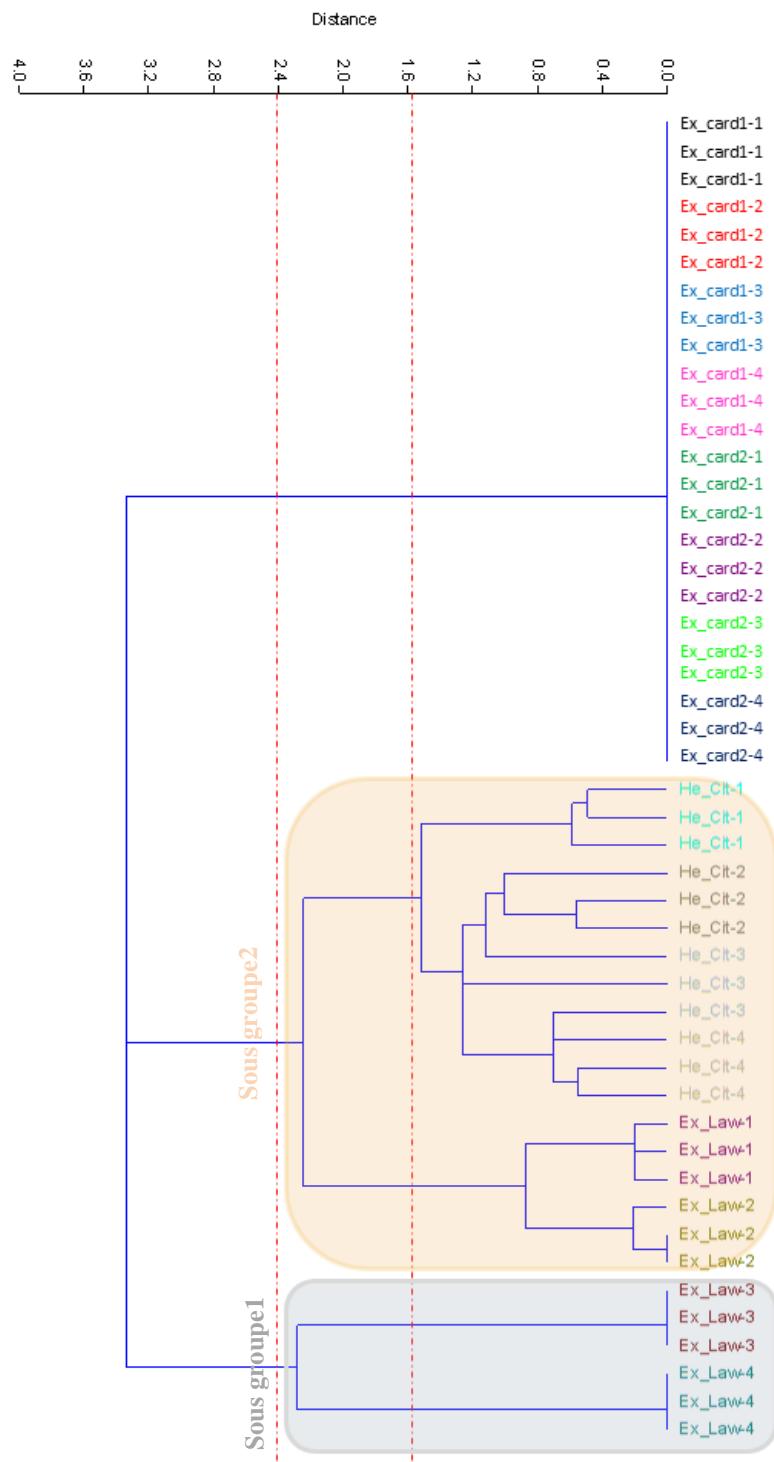
#### IV. Identification des groupes homogènes

Une comparaison de l'activité antibactérienne des différents extraits végétaux et huiles essentielles a été réalisée en combinant l'analyse en composantes principales (ACP) et la classification hiérarchique ascendante (CHA). Cette méthode a permis de mettre en évidence les ressemblances et différences dans les profils d'inhibition des souches bactériennes, selon les concentrations testées.

L'ACP appliquée à la matrice des diamètres des zones d'inhibition a montré que les deux premiers axes expliquent ensemble 96,24 % de la variance totale (axe 1 : 80,66 %, axe 2 : 15,57 %), ce qui permet une lecture fiable de la distribution des données. La représentation graphique (Figure 5) révèle trois groupes distincts, confirmés par la CHA (Figure 6), avec un seuil de regroupement fixé à une distance euclidienne de 2,4.



**Figure 5 :** Projection des échantillons selon l'Analyse en Composantes Principales (ACP)



**Figure 6 :** Dendrogramme issu de la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA)

- Groupe I : Il comprend les extraits de *Carthamus carduncellus* aux doses 1 et 2, qui ne présentent aucune activité antibactérienne. Cette absence d'effet pourrait être liée à une concentration insuffisante en composés bioactifs.
- Groupe II : Situé au centre de la projection, il regroupe les doses 3 et 4 de l'extrait de *Lawsonia inermis*.
  - La dose 3 inhibe *Pseudomonas aeruginosa*,
  - La dose 4 est efficace contre *Escherichia coli*.
  - Ces résultats indiquent une efficacité dépendante de la dose, suggérant que certains composés actifs du henné n'agissent qu'à des concentrations élevées.
- Groupe III : Il se divise en deux sous-groupes :
  - Sous-groupe 1 : regroupe les doses 1 et 2 de *Lawsonia*, actives contre trois souches bactériennes : *P. aeruginosa*, *S. aureus* (de référence) et *S. aureus* (clinique). Cette efficacité à faible dose montre une certaine variabilité dans la sensibilité des souches.
  - Sous-groupe 2 : comprend l'huile essentielle de citron (*Citrus limon*) à toutes les concentrations. Elle montre une activité à large spectre, avec une inhibition forte de toutes les souches testées, ce qui met en évidence sa richesse en composés volatils antimicrobiens puissants.

En conclusion, ces résultats soulignent que l'efficacité antimicrobienne dépend à la fois de l'origine végétale et du dosage, et que l'huile essentielle de citron se distingue par son action uniforme et puissante contre l'ensemble des souches bactériennes testées.

#### **IV.1. Analyse de similarité (ANOSIM)**

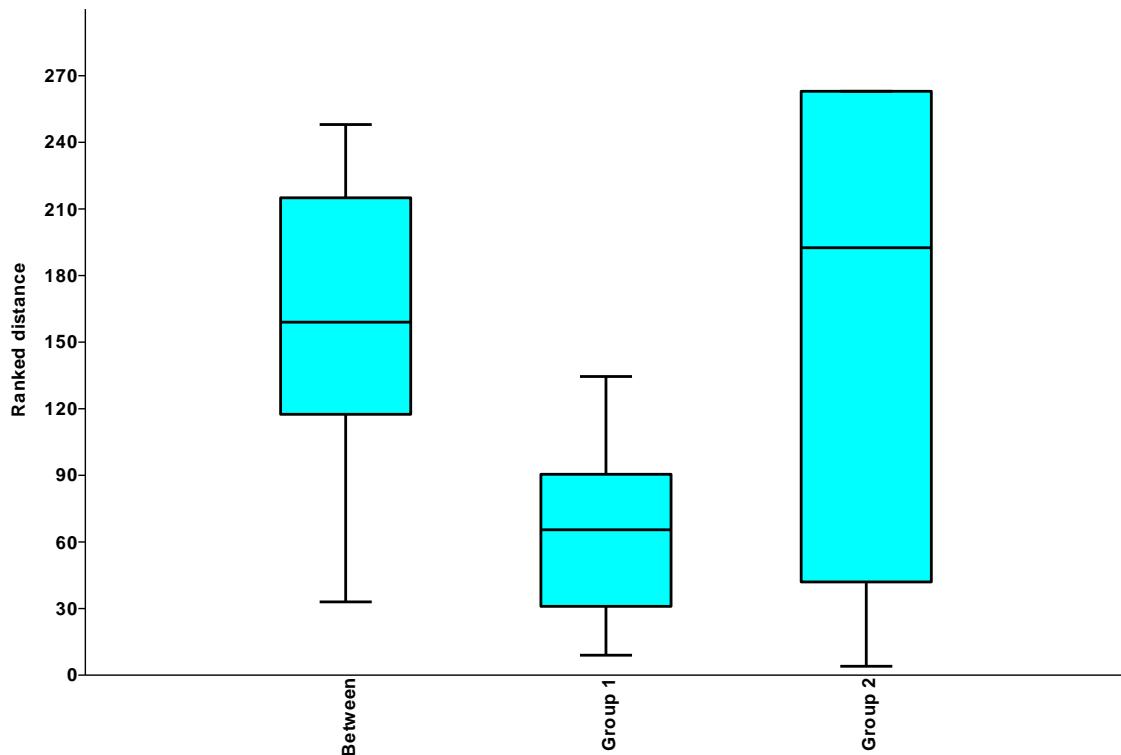
Pour tester statistiquement les différences observées entre les deux produits les plus prometteurs (*Lawsonia inermis* et *Citrus limon*), une analyse ANOSIM a été réalisée. Le test révèle une valeur  $R = 0,3467$  accompagnée d'un niveau de signification  $p = 0,0001$ , ce qui indique que la différence entre les deux traitements est hautement significative (Tableau 9).

**Tableau 8 : Résultats du test ANOSIM (valeurs R, p-value, distances intra/inter-groupes)**

Élément	Valeur
Nombre de permutations	9999

<b>Mean rank within (moyenne des rangs intra-groupe)</b>	113.5
<b>Mean rank between (moyenne des rangs inter-groupe)</b>	161.4
<b>R (statistique de test)</b>	0.3467
<b>p-value</b>	0.0001 (significatif)

La valeur R, modérée mais significative, reflète une séparation claire mais partielle entre les profils d'activité antibactérienne des deux produits. Cela signifie que, bien que chaque extrait ait une signature inhibitrice relativement cohérente, leurs effets diffèrent suffisamment pour être considérés comme distincts. Le diagramme en boîte (figure) confirme que les distances intergroupes sont supérieures aux distances intragroupes, validant la cohérence interne de chaque produit et la différenciation entre eux.



### 3. Analyse de contribution (SIMPER)

L'analyse SIMPER a été menée pour identifier les souches bactériennes contribuant le plus aux différences observées entre les traitements à base de citron et de *Lawsonia* (Tableau 10)

**Tableau 9 :** Contribution des souches bactériennes à la dissimilarité entre les traitements à base de citron et de *Lawsonia* (analyse SIMPER)

Souche bactérienne	Dissim. moyenne	Contribution %	Cumulative %	Citron (mm)	Lawsonia (mm)
<i>E. coli</i>	12.73	28.47 %	28.47 %	10.5	2.5
<i>S. aureus</i> (réf.)	12.34	27.60 %	56.07 %	11.1	6.42

<i>S. aureus</i> (clin.)	12.03	26.91 %	82.98 %	11.1	5.25
<i>P. aeruginosa</i>	7.61	17.02 %	100 %	10.8	8.08

### a. *Escherichia coli* :

Cette souche est le principal contributeur à la dissimilarité globale avec un pourcentage de 28,47 %. Elle présente une zone d'inhibition bien plus élevée sous l'effet de l'huile essentielle de citron (10,5 mm) que sous l'effet de l'extrait de *Lawsonia inermis* (2,5 mm). Cela traduit une forte sensibilité d'*E. coli* au citron, en contraste avec une faible réponse à *Lawsonia*, suggérant une efficacité spécifique marquée de l'huile de citron contre cette bactérie à Gram négatif.

### b. *Staphylococcus aureus* (souches de référence et clinique) :

Les deux souches de *S. aureus* contribuent ensemble à plus de 54 % de la dissimilarité totale. Les zones d'inhibition enregistrées sont plus larges pour le traitement au citron (~11 mm) comparé à *Lawsonia* (~6 mm pour la souche de référence et ~5 mm pour la souche clinique). Ces résultats indiquent que l'huile essentielle de citron possède une activité antibactérienne plus prononcée contre les bactéries à Gram positif. Néanmoins, *Lawsonia* montre également une certaine efficacité, bien que plus modérée.

### c. *Pseudomonas aeruginosa* :

Cette bactérie contribue à hauteur de 17,02 % à la dissimilarité. Les zones d'inhibition sont relativement proches entre les deux traitements : 10,8 mm pour le citron contre 8,08 mm pour *Lawsonia*. Ces données reflètent une sensibilité comparable de cette souche aux deux extraits, bien que le citron reste légèrement plus actif.

## Interprétation globale

L'ordre de contribution des bactéries à la dissimilarité entre les deux traitements est le suivant : *E. coli* > *S. aureus* (référence) > *S. aureus* (clinique) > *P. aeruginosa*. L'huile essentielle de citron se distingue par un effet inhibiteur plus marqué et constant sur l'ensemble des souches testées, ce qui justifie sa position distincte dans les analyses multivariées (ACP, CHA). À l'inverse, l'extrait de *Lawsonia* affiche une activité antibactérienne plus variable, dépendante à la fois de la souche bactérienne et de la concentration utilisée. Sa moindre efficacité, notamment contre *E. coli*, limite son potentiel en traitement large spectre.

La combinaison des analyses ANOSIM et SIMPER met en évidence une différence significative entre les effets antibactériens de l'huile essentielle de citron et de l'extrait de *Lawsonia inermis*. Cette différence est principalement due aux réponses différencierées des souches *E. coli* et *S. aureus*.

## V. Comparaison avec autre travaux

Dans le cadre de notre mémoire de maîtrise, on a développé une large approche expérimentale visant à comparer l'efficacité antimicrobienne de différentes plantes et types d'extraits. Pour mieux positionner et valoriser notre travail, il est essentiel de le comparer avec des recherches publiées abordant des thèmes similaires. Cette analyse détaillée compare notre approche avec celles de Habbal *et al.* (2011), Kaur et Deshwal (2018), et Merataate *et al.* (2016), en se concentrant sur les aspects biologiques, méthodologiques et statistiques.

### 1. Objectifs, Portée et Matériel Végétal

Cette étude se définit par une portée comparative et intégrative. On a cherché à évaluer simultanément trois plantes d'origine algérienne distincte : *Lawsonia inermis* de la région de Biskra, *Citrus limon* de N'Gaous, et *Carthamus carduncellus* de Mila. L'objectif principal était de comparer l'activité d'extraits bruts, obtenus par différentes méthodes, avec celle d'une huile essentielle pure, afin d'avoir une vue d'ensemble de leur potentiel respectif.

Les articles publiés ont des objectifs plus ciblés. Habbal *et al.* (2011) ont réalisé une étude approfondie sur une seule plante, *Lawsonia inermis*, mais ont introduit une variable géographique (différentes régions d'Oman) et botanique (feuilles vs. graines, frais vs. sec), en se concentrant presque exclusivement sur l'agent pathogène *Pseudomonas aeruginosa*. Merataate *et al.* (2016) se sont concentrés sur la caractérisation phytochimique de l'huile essentielle d'une seule plante, *Carduncellus helenioides*, récoltée à M'sila, avec une évaluation antibactérienne comme application secondaire de cette analyse. Enfin, Kaur et Deshwal (2018) ont exploré l'effet du jus de *Citrus limon* frais provenant d'un marché indien, une approche simple visant à valider une utilisation quasi traditionnelle.

### 2. Choix des souches bactérienne

On a utilisé un panel de criblage standard et équilibré comprenant des souches de référence ATCC : les bactéries Gram-négatives *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, et la bactérie Gram-positive *Staphylococcus aureus*. Ce panel a été enrichi d'une souche

clinique de *Staphylococcus aureus* pour une première évaluation de l'adéquation de nos extraits contre des souches potentiellement plus résistantes.

Cette approche est rigoureuse, mais celle de Habbal *et al.* (2011) démontre une pertinence clinique supérieure. En plus d'une souche de référence (*P. aeruginosa* NCTC 10662), ils ont testé leurs extraits sur isolats cliniques de *P. aeruginosa* fraîchement obtenus de patients. Biologiquement, cette démarche est fondamentale car elle confronte l'extrait à la diversité et aux mécanismes de résistance des pathogènes circulant en milieu hospitalier, donnant un poids considérable à leurs résultats. Les autres études, comme celle de Kaur *et Deshwal* (2018), utilisent un panel standard de pathogènes (*E. coli*, *Salmonella*, *P. aeruginosa*, etc.) similaire au nôtre.

### 3. Méthodologies d'Extraction et Types d'Extraits

Ce travail se distingue par la diversité des méthodes d'extraction employées, une décision délibérée visant à comparer différents profils phytochimiques. Pour *Lawsonia inermis*, on prépare un extrait brut par macération dans de l'éthanol à 50 %. Pour *Citrus limon*, on a isolé l'huile essentielle par hydrodistillation, en ciblant les composés volatils. Pour *Carduncellus*, on utilise des méthodes d'extraction à chaud (Soxhlet et décoction).

Les articles, eux, se sont concentrés sur une seule méthode. Habbal *et al.* (2011) ont réalisé une macération éthanolique de trois jours pour obtenir un extrait brut riche en composés polaires et semi-polaires. Merata et *al.* (2016) ont exclusivement utilisé l'hydrodistillation pour obtenir l'huile essentielle, objet principal de leur analyse chimique. Kaur et Deshwal (2018) ont utilisé la méthode la plus simple et la plus originale : une pression mécanique directe du fruit pour obtenir du jus frais, sans aucun solvant.

### 4. Protocoles d'évaluation antibactérienne et résultats numériques

On a choisi la méthode du disque standardisé sur gélose de Mueller-Hinton (disques de 6 mm, 15-20 µL d'extrait). Par exemple, on a mesuré des zones d'inhibition allant de 9,25 mm à 12,25 mm pour notre huile essentielle de *Citrus limon* contre des souches de *S. aureus* (cliniques et de référence). L'extrait de *Lawsonia inermis* a montré une activité notable contre *P. aeruginosa* (zone de 13 mm) et *S. aureus* (zone de 14,33 mm) à la concentration la plus élevée.

Les autres études présentent des variations. Merata et al. (2016) ont également utilisé la méthode des disques, mais avec un volume plus faible ( $10 \mu\text{L}$ ), et n'ont trouvé une activité que contre *S. aureus* avec une zone modeste de 11 mm. À l'opposé, Habbal et al. (2011) et Kaur et Deshwal (2018) ont utilisé la méthode des puits.

Kaur et Deshwal (2018) rapportent une zone d'inhibition impressionnante de 28,6 mm pour leur jus de citron contre *S. aureus*. Cependant, cette valeur doit être interprétée avec prudence en raison de la grande quantité déposée ( $100 \mu\text{L}$  dans un puits de 7 mm). De même, Habbal et al. (2011) ont utilisé  $60 \mu\text{L}$  dans des puits de 4 mm, obtenant des zones d'inhibition supérieures à 25 mm pour les extraits de henné les plus actifs contre *P. aeruginosa*. Ces différences de protocoles (disque vs puits, volumes variables) rendent toute comparaison directe des diamètres d'inhibition entre les études scientifiquement hasardeuse.

## Conclusion

À travers cette étude, nous avons pu évaluer l'activité antibactérienne des extraits végétaux et des huiles essentielles issus de *Lawsonia inermis*, *Carthamus carduncellus* et *Citrus limon*. Les résultats ont révélé une variation significative de l'efficacité en fonction de l'espèce végétale, du type d'extrait et de la méthode d'extraction utilisée. L'huile essentielle de citron s'est distinguée par une action antibactérienne large et puissante contre la majorité des souches testées, ce qui en fait un candidat prometteur comme agent antimicrobien naturel. À l'inverse, l'extrait de *Lawsonia inermis* a montré une activité modérée, dépendante de la concentration et plus ciblée. Quant à *Carthamus carduncellus*, ses extraits ont révélé un effet très limité, suggérant la nécessité d'explorer d'autres techniques d'extraction ou formulations. Ces résultats soulignent l'importance d'explorer des alternatives naturelles aux antibiotiques synthétiques, notamment face à l'émergence croissante des résistances bactériennes. Ils soutiennent également l'utilisation potentielle de certains extraits comme compléments ou ingrédients actifs dans le développement de traitements ou produits préventifs naturels. Nous recommandons, dans les travaux futurs, d'élargir cette étude à d'autres souches bactériennes, de tester diverses méthodes d'extraction, et d'évaluer l'efficacité biologique de ces extraits *in vivo*, afin de mieux comprendre leur potentiel thérapeutique et leur profil de sécurité.

## Bibliographie

### A

- Ali-Delille, D. (2013). *Les alcaloïdes : pharmacologie et toxicologie*. Presses universitaires de Strasbourg.
- Ashokkumar, K., Dharshini, M., Janani, T., Shrravani Sri, V., & Subhasidha, R. (2024). *Nyctanthes arbor-tristis Linn.* (Night Jasmine): Extraction techniques, phytochemical constituents, and biological impacts of extracts and essential oil. \*Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 10\*(1).

### B

- Bibili, F. E., Bouajila, J., Valentin, A., & Chatelain, C. (2013). *Lawsonia inermis* : its anatomy and its antimalarial, antioxidant and human breast cancer cells MCF7 activities. *Pharmaceutical Analytical Acta*, 1, 203. <https://doi.org/10.4172/2329-6887.1000203>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barra, A. (2009). Factors affecting chemical variability of essential oils: A review of recent developments. *Natural Product Communications*, 4(8), 1147–1154. Abdelmohsen, U. R., & Elmaidomy, A. H. (2025). Exploring the therapeutic potential of essential oils: A review of composition and influencing factors. *Frontiers in Natural Products*, 4, Article 1490511.
- Barros, L., et al. (2022). Extraction of essential oils from plants by hydrodistillation with pulsed electric fields (PEF) pre-treatment. *Applied Sciences*, 12(16), 8107.
- Bhadange, Y. A., Carpenter, J., & Saharan, V. K. (2024). A comprehensive review on advanced extraction techniques for retrieving bioactive components from natural sources. \*ACS Omega, 9\*, 31274–31297.

- Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R. K., & Bandyopadhyay, U. (2002). Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*, 82(11), 1336–1345.
- Bitwell, C., Sen, I. S., Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. \**Scientific African*, 19\*.
- Borade, A. S., Kale, B. N., & Shete, R. V. (2011). A phytopharmacological review on *Lawsonia inermis* (Linn). *International Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 2(1), 536–541.
- Bouhatem, M. N., Debbache, N., & Bensouilah, M. (2013). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. *Agrobiologia*. [https://agrobiologia.net/online/wp-content/uploads/2020/01/18-1653-1659\\_-BOUKHATEM-et-al\\_.pdf](https://agrobiologia.net/online/wp-content/uploads/2020/01/18-1653-1659_-BOUKHATEM-et-al_.pdf)
- Boukhobza, F., & Goetz, P. (2014). *Phytothérapie en odontologie* (A.-C. Quemoun, Préf.). CDP - Cahiers de prothèses.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., et al. (2017). Medicinal plants used in traditional treatment of cancer in Morocco: Ethnobotanical and ethnopharmacological studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 313–319.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., & Anackov, G. (2007). Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1822–1828.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- Bylappa, Y., Balasubramanian, B., Park, S., Joseph, K. S., Chacko, A. M., Sudheer, W. N., et al. (2024). Three decades of advances in extraction and analytical techniques for guava (*Psidium guajava* L.): A review. \**Results in Chemistry*, 10\*.

## C

- Chan, Y. J., Chiu, C. S., Li, P. H., & Lu, W. C. (2024). Evaluation of different roasting condition on yield, physico-chemical characteristics, and antioxidant activity of cold-pressed sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) oil. \**LWT*, 203\*.

- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2020). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard – 11th Edition. CLSI document M07-A11.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
- Cronquist, A. (1982). An integrated system of classification of flowering plants. *Brittonia*, 34(2), 268–270. <https://doi.org/10.2307/2806559>

## D

- Deshwal, V. K., & Kaur, B. (2018). Antimicrobial activity of citrus fruits on certain pathogenic microorganism. *Journal of Plant Development Sciences*, 10(8), 481–483.
- Dunstan, J. A., Simmer, K., & Prescott, S. L. (2013). Essential oils and their biological roles in plant protection and pollination. *Plant Biology Journal*, 15(2), 123–134. <https://doi.org/10.1002/plbj.2013.123>

## E

- Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., Al-Mana, F. A., & Al-Yafra, M. A. (2020). Antioxidant and biological activities of *Acacia saligna* and *Lawsonia inermis* natural populations. *Plants*, 9(7), 908. <https://doi.org/10.3390/plants9070908>

## G

- Gbenou, J. D. (1999). Huiles essentielles de quelques plantes aromatiques des genres *Eucalyptus* et *Melaleuca* (Myrtacées) et *Chenopodium* (Chénopodiacées) du Bénin : Variations inter et intraspécifiques du rendement et de la composition chimique et propriétés pharmacodynamiques [Thèse de doctorat, Université Nationale du Bénin]. DICAMES.  
<https://dicames.online/jspui/bitstream/20.500.12177/3151/1/Th%C3%A8se%20doctorat-GBENOU%20UAC%20I.pdf>
- Gilbert, J., & Woods, S. M. (2006). Strategies and considerations for multi-location FHB screening nurseries. In T. Ban, J. M. Lewis, & E. E. Phipps (Eds.), *The global Fusarium initiative for international collaboration: A strategic planning workshop held at CIMMYT, El Batán, Mexico; March 14-17, 2006* (pp. 93–102). CIMMYT.

- Goldman, E. L., & Green, H. (2008). Practical handbook of microbiology (2nd ed., 864 p.). CRC Press.
- González-Hernández, R. A., Valdez-Cruz, N. A., & Trujillo-Roldán, M. A. (2024). Factors that influence the extraction methods of terpenes from natural sources. \*Chemical Papers, 78\*, 2783–2810.
- Grunwald, J., Brendler, T., & Jaenicke, C. (2006). *PDR for Herbal Medicines* (4th ed.). Thomson Healthcare.

## **H**

- Habbal, O., Hasson, S. S., El-Hag, A. H., Al-Mahrooqi, Z., Al-Hashmi, N., Al-Bimani, Z., Al-Balushi, M. S., & Al-Jabri, A. A. (2011). Antibacterial activity of *Lawsonia inermis* Linn (Henna) against *Pseudomonas aeruginosa*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1(3), 173–176.
- Hallal, Z. (2011). *Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites du Citrus et application à la sardine* (Thèse de magister, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou).
- Hammer, Ø. (2024). PAST 4 Reference Manual – Version 4.17. Natural History Museum, University of Oslo. <https://www.nhm.uio.no/english/research/resources/past>
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., & Ryan, P.D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica, 4(1), 9 pp. [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/past.pdf](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf)
- Hanifa, H. (2022). Informations sur le citronnier, ses types, sa culture et plus.
- Hien, D. T., Huong, T. T., Cuong, N. X., Thao, N. P., Nam, N. H., Dat, N. T., et al. (2010). Triterpenoid constituents from *Lawsonia inermis*. Journal of Science and Technology, 78A, 22–26.

## **I**

- Iqbal, K., Iqbal, J., Staerk, D., & Kongstad, K. T. (2017). Characterization of antileishmanial compounds from *Lawsonia inermis* L. leaves using semi-high resolution antileishmanial profiling combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR. Frontiers in Pharmacology, 8, 337. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00337>
- Iserin, P., Vial, J., & Lemoine, A. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*. Larousse.

## **J**

- Jain, C. V., Shah, D. P., Sonani, N. G., Dhakara, S., & Patel, N. M. (2010). Pharmacognostical and preliminary phytochemical investigation of *Lawsonia inermis* L leaf. Romanian Journal of Biology - Plant Biology, 55(2), 127–133.

## **K**

- Keyes, C. A., Giltrow, K. R., & Mahon, T. J. (2024). A comparison of maceration methods for the preparation of infant skeletal remains for forensic anthropological analysis. \*International Journal of Legal Medicine, 138\*(3), 1085–1092.
- Kunkele, K., & Lobmeyer, W. (2007). *Plantes médicinales : propriétés et usages thérapeutiques*. Éditions scientifiques et médicales.

## **L**

- Lin, N., & Mai, Q. F. (2020). Aperçu sur l'application des plantes médicinales dans le paysage. Botanical Research, 9(2).

## **M**

- Merata, F., Lalaoui, A., Rebbas, K., Belhadad, O. K., Hammadou, N. I., Merata, H., Demirtas, I., Akkal, S., & Laouer, H. (2016). Chemical composition of the essential oil of *Carduncellus helenioides* (Desf.) Hanelt from Algeria. Oriental Journal of Chemistry, 32(3), 1305–1312.
- Musja, A. E., Selvi, A. T., Aravindhan, R., Madhan, B., Fathima, A. A., Raghava Rao, J., & Chandrasekaran, B. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Lawsonia inermis* (henné) contre des souches microbiennes isolées de peau/cuir de chèvre. Journal of the American Leather Chemists Association (JALCA), 106, 171-179.

## **N**

- Nabti, B. (2025). Les Huiles Essentielles : Des Bases Fondamentales Aux ApplicationsPratiques.ResearchGate.[https://www.researchgate.net/publication/390066463\\_Les\\_Huiles\\_Essentielles\\_Des\\_Bases\\_Fondamentales\\_Aux\\_Applications\\_Pratiques](https://www.researchgate.net/publication/390066463_Les_Huiles_Essentielles_Des_Bases_Fondamentales_Aux_Applications_Pratiques)
- Navarrete-Carriola, D. V., Paz-González, A. D., Vázquez-Jiménez, L. K., De Luna-Santillana, E., Cruz-Hernández, M. A., & Bandyopadhyay, D., et al. (2024).

Comparative analysis of a secondary metabolite profile from roots and leaves of Iostephane heterophylla by UPLC-MS and GC-MS. \*ACS Omega, 9\*, 5429–5439.

## O

- Oda, Y., Nakashima, S., Kondo, E., et al. (2018). Comparison of lawsone contents among *Lawsonia inermis* plant parts and neurite outgrowth accelerators from branches. *Journal of Natural Medicines*, 72, 890–896. <https://doi.org/10.1007/s11418-018-1217-1>
- Organisation mondiale de la Santé. (2020, 31 juillet). *Résistance aux antibiotiques*. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>

## P

- Pelt, J.-M. (1980). *La médecine par les plantes*. Fayard.
- Pinto, D., López-Yerena, A., Lamuela-Raventós, R., Vallverdú-Queralt, A., Delerue-Matos, C., & Rodrigues, F. (2024). Predicting the effects of in-vitro digestion in the bioactivity and bioaccessibility of antioxidant compounds extracted from chestnut shells by supercritical fluid extraction – A metabolomic approach. \*Food Chemistry, 435\*.

## R

- Rao, J., Chen, B., & McClements, D. J. (2019). Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanisms of action. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10(1), 365–387.
- Rashd, J. A., Lalung, J., Kassim, M. A., Wijaya, D., Allzrag, A. M. M., & Shaah, M. A. (2024). Kinetics and thermodynamic studies on biodiesel synthesis via Soxhlet extraction of *Scenedesmus parvus* algae oil. \*Energy Conversion and Management: X, 23\*.
- Rehman, F. U., Kalsoom, M., Adnan, M., Fazeli-Nasab, B., Naz, N., Ilahi, H., Ali, M. F., Ilyas, M. A., Yousaf, G., Toor, M. D., & Ali, Z. (2021). Importance of medicinal plants in human and plant pathology: A review. *International Journal of Pharmacy & Biomedical Research*, 8(2), 1–11.

## S

- Spiegel-Roy, P., & Goldschmidt, E. E. (1996). Biology of citrus (p. 239). Cambridge University Press.
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., & Sinniah, U. R. (2016). Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: An updated review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2016, Article ID 3012462.

## T

- Tuan, N. A., Khanh, P. N., Ha, N. X., Binh, T. C., Khanh, N. D., & Oanh, T. T. (2022). Compounds isolated from *Lawsonia inermis* L. collected in Vietnam and evaluation of their potential activity against the main protease of SARS-CoV-2 using in silico molecular docking and molecular dynamic simulation. Natural Product Communications, 17, 1934578X221125161.

## W

- Wichtl, M., & Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique* (2<sup>e</sup> éd.). Lavoisier.
- Wichtl, M., & Anton, R. (2009). *Plantes thérapeutiques : guide d'identification, de préparation et d'emploi*. Lavoisier.
- 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. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>

## Y

- Yadav, S., Kumar, A., Dora, J., & Kumar, A. (2013). Essential perspectives of *Lawsonia inermis*. International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences, 2(2), 888-898.
- Yang, C. S., Chen, J. J., Huang, H. C., Huang, G. J., Wang, S. Y., Sung, P. J., et al. (2017). New benzenoid derivatives and other constituents from *Lawsonia inermis* with inhibitory activity against NO production. Molecules, 22(6), 936–944.

## Annexes

### Annexe 1 : Préparation matière première (*Lawsonia inermis* )

Les feuilles de *Lawsonia inermis* sont d'abord récoltées manuellement.

Elles sont ensuite séchées pendant plusieurs jours.

Seules les feuilles intactes, bien séchées, sans moisissures ni impuretés sont conservées .

Les tiges, les branches et toute autre matière étrangère sont soigneusement éliminées, de sorte que seules les feuilles soient utilisées.

Après le séchage, les feuilles sont broyées à l'aide d'un moulin électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Cette poudre est ensuite utilisée pour la préparation des extraits éthanoïques



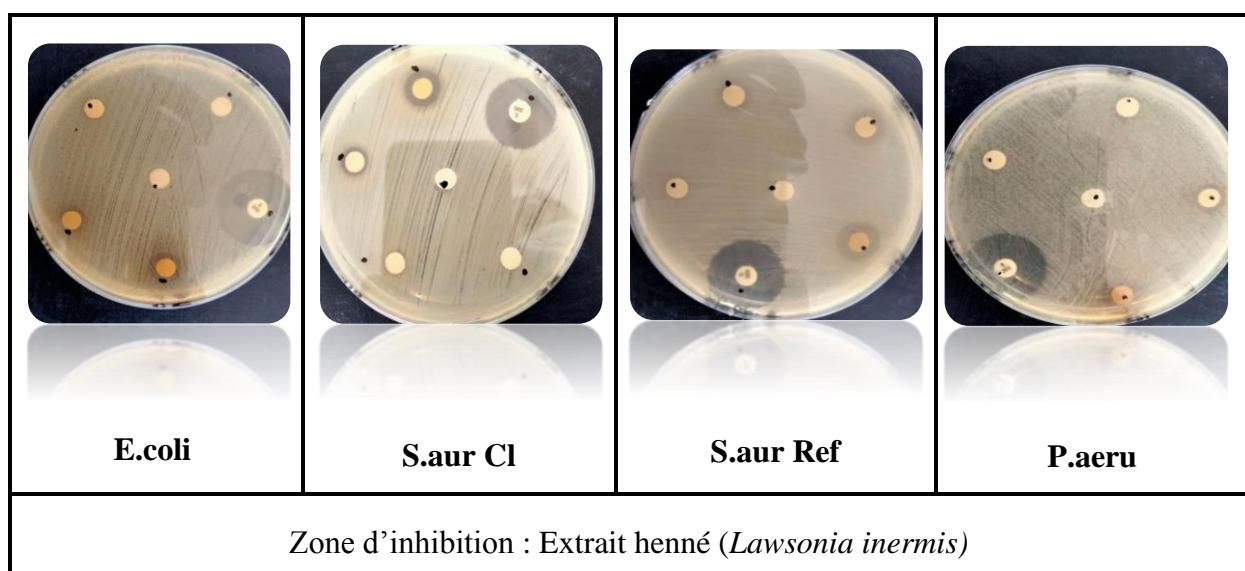
## Annexe 2 : utilisation de *citrus limon* :

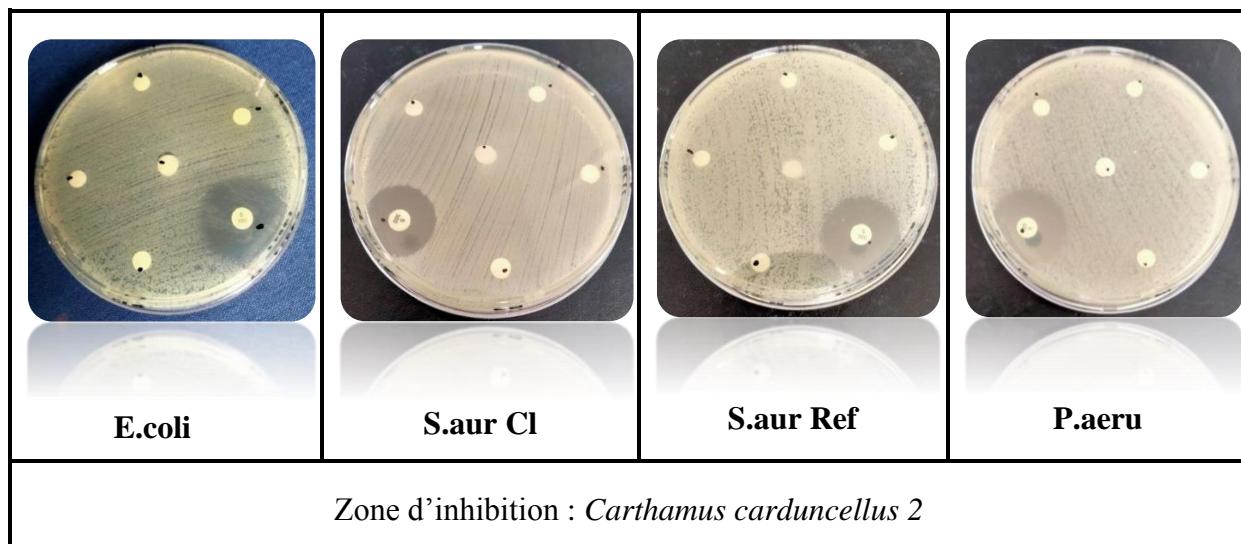
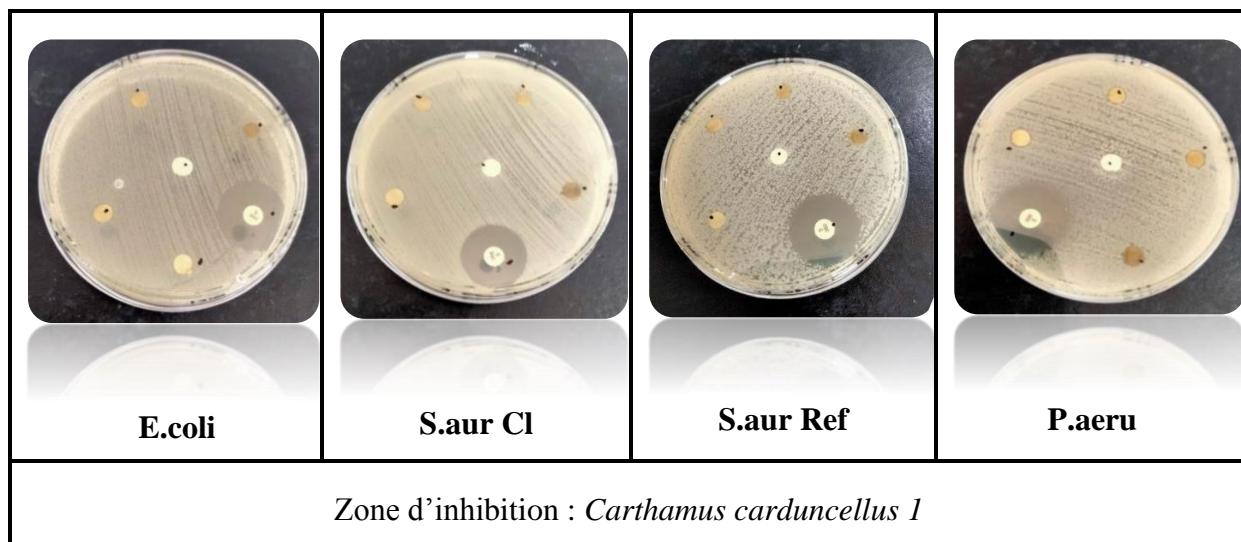
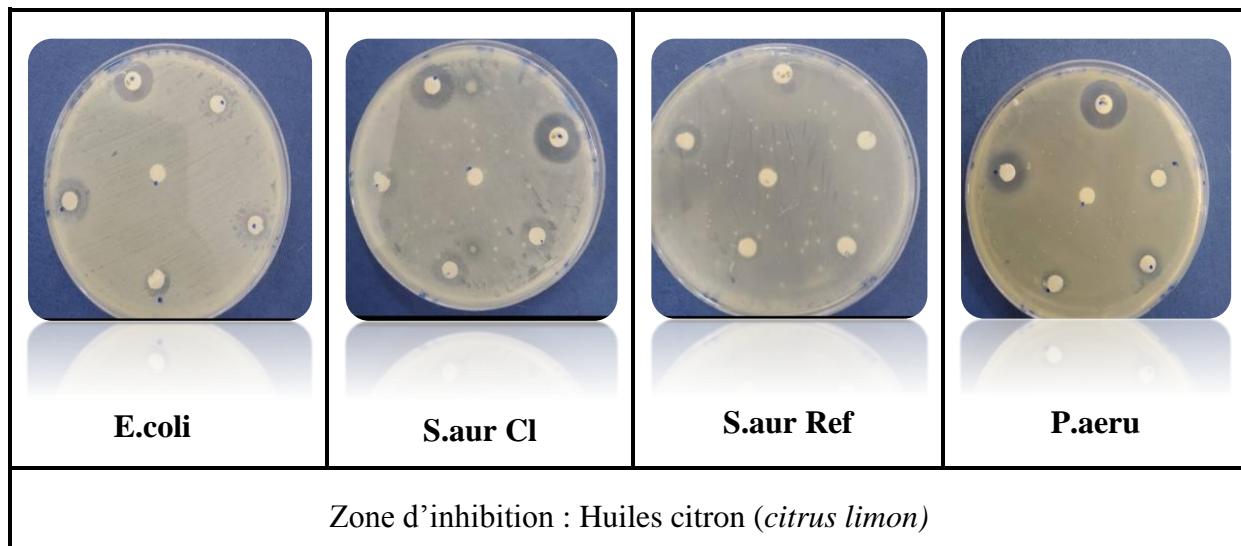
Est étroitement liée à sa composition biochimique. Il contient une grande quantité d'acide citrique, ainsi que des minéraux tels que le calcium, le phosphore et le potassium, en plus des vitamines E, K, B et surtout la vitamine C, présente à raison de 53 mg pour 100 g. Grâce à cette richesse, le citron est très apprécié pour ses propriétés thérapeutiques, antiseptiques et antioxydantes. Il est couramment utilisé dans le traitement de divers maux comme le scorbut, la toux ou le rhume. Certaines recherches suggèrent même un effet bénéfique du citron dans la prévention des maladies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer, en raison de la présence de flavonoïdes puissants (spiegel-roy et goldschmidt, 1996).

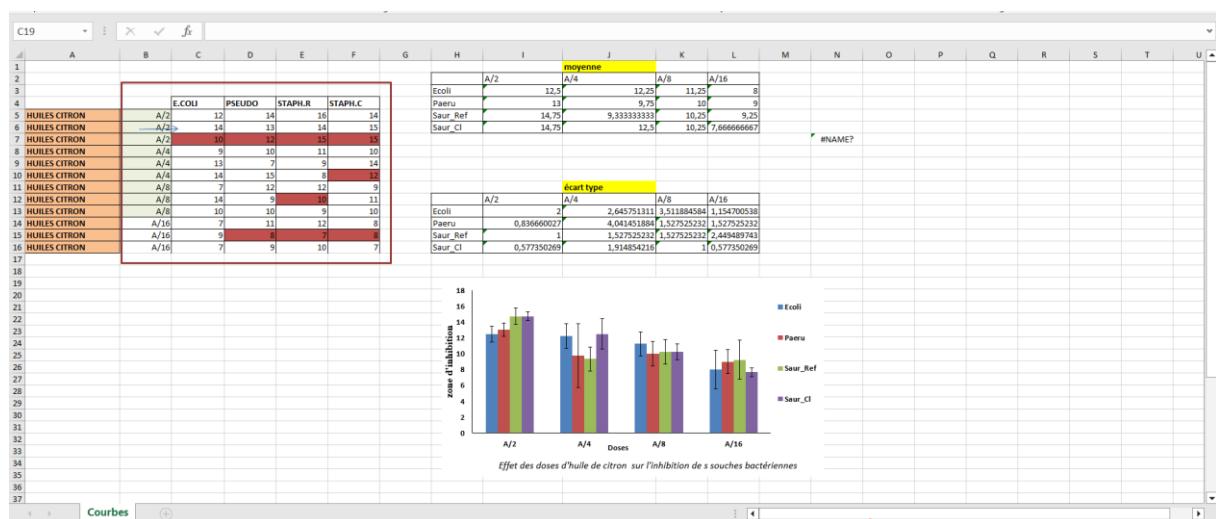
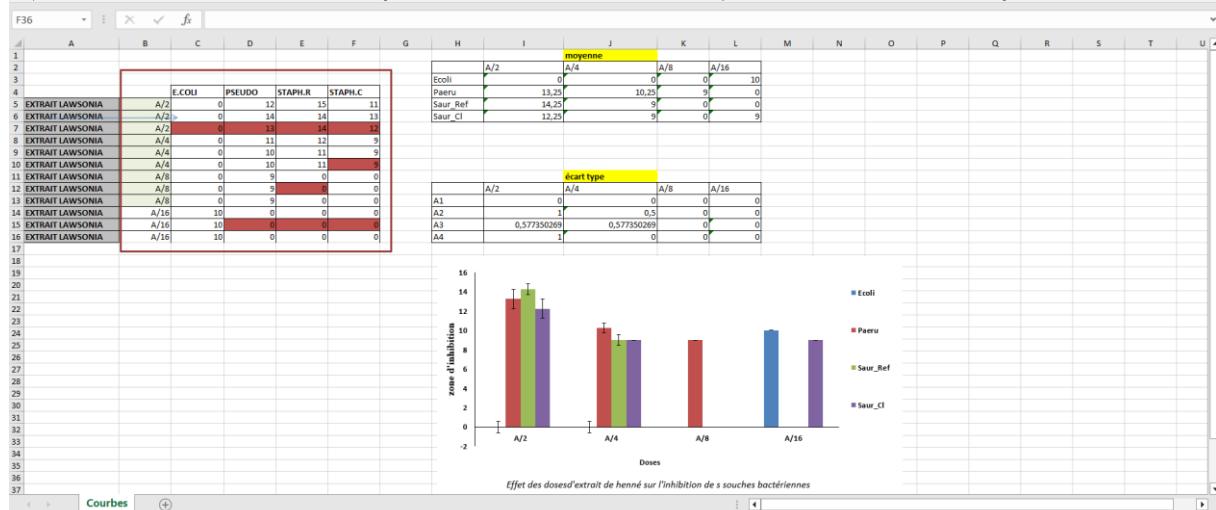
Sur le plan alimentaire, le citron peut être consommé frais, transformé en jus, en conserves ou en confitures. Il est également prisé comme condiment, en raison de ses qualités organoleptiques. Les sous-produits du citron sont largement valorisés. En outre, le citron est une source importante d'huile essentielle. Ces essences peuvent être extraites des feuilles (petit-grain), des fleurs (néroli), ou encore de l'écorce des fruits.

Les huiles essentielles de citron trouvent des applications variées dans les domaines de la parfumerie, de l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

## Annexe : 03





**Annexe :4**

**Annexe : 5****Absorbance values are displayed as OD****Absorbance****Raw Data (620)****Concentrations**

	C1	C2	C3		C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	Témoin-	Témoin+
Produits	0.343	0.329	0.435		0.34	0.416	0.535	0.8	0.629	0.569	0.57	0.698	0.38
	0.168	0.171	0.153		0.084	0.109	0.089	0.16	0.181	0.298	0.298	0.702	0.462
	0.289	0.274	0.389		0.559	0.701	0.835	1.036	0.878	0.832	0.906	0.824	0.848
	0.395	0.146	0.132		0.102	0.134	0.359	0.643	0.766	0.805	0.698	0.384	0.841
	0.282	0.298	0.794		0.577	0.652	1.419	1.595	1.495	1.538	1.638	0.479	1.174
	0.145	0.108	0.082		0.079	0.216	0.539	0.657	0.752	0.809	0.809	1.255	1.024
	0.356	0.295	0.325		0.358	0.477	0.735	1.19	1.108	0.943	0.996	1.319	0.932
	0.174	0.072	0.077		0.072	0.319	0.297	0.385	0.332	0.42	0.64	0.461	0.835

## Annexe : 6

<b>Ex_Law</b>	<b>Ex_Law</b>	<b>Ex_Law</b>	<b>Ex_Law</b>
<b>E.coli</b>	<b>P.aeru</b>	<b>S.aur R</b>	<b>S.aur Cl</b>
<b>C2</b>	<b>C2</b>	<b>C2</b>	<b>C2</b>
<b>HE_Cit</b>	<b>HE_Cit</b>	<b>HE_Cit</b>	<b>HE_Cit</b>
<b>E.coli</b>	<b>P.aeru</b>	<b>S.aur R</b>	<b>S.aur Cl</b>
<b>C2, C3, C4,C5, C6, C7, C8</b>	<b>C2, C3, C4</b>	<b>C2, C3</b>	<b>C2, C3</b>

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لكل من المستخلصات الخام والزيوت الأساسية لثلاث نباتات طبية مستخدمة تقليدياً في الجزائر، وهي *Citrus limon*, *Lawsonia inermis* و *Carduncellus carthamus*. تم تحضير المستخلصات باستخدام طرق استخراج مختلفة، من بينها النقع ، الاستخلاص الساخن ، و القطرير المائي. تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا ضد 4 سلالات بكتيرية، منها 2 موجيّنا غرام (*Staphylococcus aureus*) و 2 سالينا غرام (*Escherichia coli*) و (*Pseudomonas aeruginosa*). أظهرت النتائج أن زيت *Citrus limon* الأساسي أبدى فعالية ملحوظة ضد جميع السلالات المختبرة، خاصة *S. aureus* و *E. coli*، مع مناطق تثبيط تجاوزت 12 مم. أما مستخلص *Lawsonia inermis* فقد أظهر نشاطاً انتقائياً أكثر، مرتبطاً بالتركيز ونوع السلالة، في حين لم تظهر مستخلصات *Carduncellus carduncellus* تأثيراً مضاداً ملحوظاً. ثبتت معالجة البيانات باستخدام تحليل إحصائية متعددة المتغيرات، شملت تحليل المكونات الرئيسية (ACP)، والتصنيف الهرمي التصاعدي (CHA) ، وتحليل التشابه (ANOSIM) ، وتحليل المساهمة (SIMPER). أبرزت نتائج تحليل ANOSIM وجود فرق معنوي بين تأثيرات *Lawsonia inermis*, *Citrus limon* و *Carduncellus carduncellus* (R = 0.3467, p = 0.0001) ، بينما كشف تحليل SIMPER أن *E. coli* ساهمت بأكبر نسبة في التمييز بين العلاجات. تؤكد هذه النتائج إمكانيات بعض النباتات الطبية كمصدر طبيعية بديلة للمضادات الحيوية، وتبرز أهمية موافقة البحث في تأثيرات التركيب النباتي وطريقة الاستخلاص والتراكير على الفعالية المضادة للبكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** زيت أساسية، مستخلصات نباتية، ANOSIM، SIMPER، ACP، CHA، النشاط المضاد للبكتيريا.

## Résumés

Cette étude vise à évaluer l'activité antibactérienne des extraits bruts et des huiles essentielles de trois plantes médicinales traditionnellement utilisées en Algérie : *Citrus limon*, *Lawsonia inermis* et *Carthamus carduncellus*. Les extraits ont été préparés à l'aide de différentes méthodes d'extraction, telles que la macération, l'extraction à chaud et l'hydro-distillation. L'efficacité antibactérienne a été testée contre quatre souches bactériennes, dont deux Gram positif (*Staphylococcus aureus* de référence et clinique) et deux Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *Citrus limon* possède une activité antibactérienne notable contre toutes les souches testées, notamment *E. coli* et *S. aureus*, avec des zones d'inhibition supérieures à 12 mm. L'extrait de *Lawsonia inermis* a révélé une activité plus sélective, dépendant de la concentration et de la souche bactérienne. En revanche, les extraits de *Carthamus carduncellus* n'ont montré qu'une activité antibactérienne faible voire nulle.

Les données ont été analysées par des méthodes statistiques multi variées, notamment l'Analyse en Composantes Principales (ACP), la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA), l'Analyse de Similarité (ANOSIM) et l'analyse SIMPER. L'ANOSIM révélé une différence significative entre *Citrus limon* et *Lawsonia inermis* (R = 0,3467, p = 0,0001), tandis que l'analyse SIMPER a identifié *E. coli* comme la souche la plus contributrice à cette distinction.

Ces résultats confirment le potentiel de certaines plantes médicinales comme alternatives naturelles aux antibiotiques, et soulignent l'influence des méthodes d'extraction, de la concentration et de la souche bactérienne sur l'efficacité antimicrobienne.

**Mots-clés :** *Citrus limon*, *Lawsonia inermis*, *Carthamus carduncellus*, huiles essentielles, extraits végétaux, ANOSIM, SIMPER, ACP, CHA, activité antibactérienne.

## Abstract

This study aims to evaluate the antibacterial activity of crude extracts and essential oils from three medicinal plants traditionally used in Algeria: *Citrus lemon*, *Lawsonia inermis*, and *Carthamus carduncellus*. The extracts were prepared using various extraction methods, including maceration, hot extraction, and hydro-distillation. Antibacterial efficacy was tested against four bacterial strains, including two Gram-positive (*Staphylococcus aureus* reference and clinical) and two Gram-negative (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*).

The results showed that *Citrus lemon* essential oil exhibited notable antibacterial activity against all tested strains, particularly *E. coli* and *S. aureus*, with inhibition zones exceeding 12 mm. *Lawsonia inermis* extract demonstrated more selective activity, dependent on concentration and bacterial strain. Conversely, *Carthamus carduncellus* extracts exhibited little to no antibacterial effect.

The data were analyzed using multivariate statistical methods, including Principal Component Analysis (PCA), Hierarchical Cluster Analysis (HCA), Analysis of Similarity (ANOSIM), and SIMPER analysis. ANOSIM showed a significant difference between *Citrus lemon* and *Lawsonia inermis* (R = 0.3467, p = 0.0001), while SIMPER identified *E. coli* as the main contributor to the observed dissimilarity.

These findings confirm the potential of certain medicinal plants as natural alternatives to antibiotics and highlight the influence of plant origin, extraction method, and bacterial target on antibacterial efficacy.

**Keywords:** *Citrus lemon*, *Lawsonia inermis*, *Carthamus carduncellus*, essential oils, plant extracts, ANOSIM, SIMPER, PCA, HCA, antibacterial activity.



## Déclaration de correction de mémoire de master

2025

Référence du mémoire N°: ..... / 2025

PV de soutenance N°: ..... / 2025

Nom et prénom(en majuscule) de l'étudiant (e) :

لقب و إسم الطالب(ة) :

Chouihane Fatiha ; Chouihane Khourane Amel

شويهانة فاطحة خوارانة أم كلثوم

La mention التقدير

Tres bon

Note(./20) العلامة

17

عنوان المذكرة L'intitulé de mémoire

Activité antibactérienne des extraits et des huiles essentielles de trois plantes

### Déclaration et décision de l'enseignant promoteur :

#### Déclaration :

Je soussigné (e), ..... Dousset ABOU CHANNO .....  
(grade) Prof ..... à l'université  
de ..... BISKRA ..... , avoir examiné intégralement ce  
mémoire après les modifications apportées par l'étudiant.

#### J'atteste que :

- \* le document a été corrigé et il est conforme au modèle de la forme du département SNV
- \* toutes les corrections ont été faites strictement aux recommandations du jury.
- \* d'autres anomalies ont été corrigées

#### تصريح :

الممضى (ة) أسفاه ..... صورت ..... 22/1/2024 .....  
(الرتبة) ..... استاذ .....  
بجامعة ..... ،  
أصرح بأنني راجعت محتوى هذه المذكرة كلياً مراجعة دقيقة  
وهذا بعد التصحيحات التي أجراها الطالب بعد المناقشة، وعليه  
أشهد بأن :  
المذكرة تتوافق بشكلها الحالي مع النموذج المعتمد لقسم علوم  
طبيعة والحياة.  
المذكرة صحيحة وفقاً لكل توصيات لجنة المناقشة  
تم تدارك الكثير من الإختلالات المكتشفة بعد المناقشة

#### Décision :

Sur la base du contenu scientifique, de degré de conformité  
et de pourcentage des fautes linguistiques, Je décide que  
ce mémoire doit être classé sous la catégorie

#### قرار :

تماماً على درجة مطابقتها للنموذج ، على نسبة الأخطاء اللغوية  
على المحتوى العلمي أقرر أن تصنف هذه المذكرة في الدرجة

acceptable مقبول	ordinaire عادي	bien حسن	très bien جداً جيد جداً	excellent ممتاز	exceptionnel مميز
E	D	C	B	A	A-



الأستاذ المشرف

لتاريخ ..... / ..... / 2025

NB : Cette fiche doit être collée d'une façon permanente derrière la page de garde sur les copies de mémoire déposées au niveau de la bibliothèque universitaire