

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



جامعة احمد بوقرة- بومرداس

Université M'hamedBougerra Boumerdes

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Spécialité Biotechnologie Microbienne

Mémoire de Master Académique

Thème

**Activité antimicrobienne des extraits végétaux
récupérés à partir de la partie aérienne de la Sauge**

Salvia officinalis L

Présenté par :

M^{me} Farsi Bouchera

M^{lle} Bensaada Meriem

Devant le jury composé de :

M^{me} KhemiliSouad

MCA (U.M.B.B)

Présidente

M^{me} Behidj Nassima

Pro (U.M.B.B)

Promotrice

M^{me} SayahAmna

MAA (U.M.B.B)

Examinatrice

Année Universitaire 2019/2020

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	3
I. 1 L'aromathérapie.....	3
I 1.1 Définition	3
I 1.2 Historique.....	3
I. 2 La sauge <i>Salvia officinalis</i>	4
I 2.1 Historique.....	4
I 2.2 Généralités sur la sauge.....	5
I 2.3 Description	5
I 2.4 La partie utilisée.....	7
I 2.5 Odeur et saveur	7
I 2.6 Systématique	7
I 2.7 Origine et répartition	8
I 2.8 Culture.....	8
I 2.9 Les effets indésirables de la sauge.....	8
I. 3 Les métabolites produits.....	9
I 3.1 Composés phénoliques.....	9
I.4 Les propriétés de la sauge	11
I 4.1 Les propriétés médicinales	11
I 4.2 Les propriétés culinaires	12
I 4.3 Les propriétés en phytocosmétologie	12
I 4.4 Autres propriétés	12
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	11
II. 1 Matériel utilisé	13
II 1.1 Le matériel microbiologique	13
II 1.2 Matériel non biologique	13
II .2 Méthodes.....	13
II 2.1 Méthodes d'extraction	13

II 2.1.1	Extraction par filtration.....	13
II 2.1.2	Extraction par la méthode de soxhlet.....	14
II. 3	Identification des extraits	14
II 3.1	Etude qualitative ou photochimique	14
II 3.1.1	Tanins	14
II 3.1.2	Saponosides	14
II 3.1.3	Alcaloïdes.....	14
II 3.1.4	Flavonoïdes	15
II 3.1.5	Stéroïls et terpènes.....	15
II 3.1.6	Mucilages	15
II 3.1.7	Glucosides cardiotoniques.....	15
II 3.1.8	Coumarines	15
II 3.1.9	Amidon.....	15
II 3.1.10	Quinone libre	16
II. 4	Détermination de l'activité antimicrobienne des extraits étudiés	16
II 4.1	Activité antifongique.....	16
II 4.1.1	Les milieux de culture utilisés pour déterminer l'activité antifongique	16
II 4.1.2	Etude macroscopique et microscopique	16
II 4.1.3	Détermination de l'activité antifongique.....	16
II 4.2	Activité antibactérienne.....	17
II 4.2.1	Activité antibactérienne des extraits obtenus.....	17
II 4.2.2	Choix des milieux de culture	17
II 4.2.3	L'antibiogramme ou L'antibiogramme standard en milieu gélosé ou méthode des disques	18
Chapitre III	: Synthèse des résultats.....	18
III 1.	Résultat et discussion :	20
Conclusion	20
Références	21

Liste des figures

Figure 1: Feuilles de la sauge officinale (Hans et <i>al.</i> , 2007)	5
Figure 2: Fleur de la sauge officinale (Busser, 1997).	6
Figure 3: Fruits de la sauge officinale (Cuvier et <i>al.</i> , 1835) .	6
Figure 4 : <i>Salvia officinalis</i>	7
Figure 5: Calendrier de la période de semis à la récolte de <i>Salvia officinalis</i>	8
Figure 6: Structure du phénol (Clarke, 2008)	9
Figure 7: Structures chimiques des polyphénols (Lu et Yeap, 2001).	10
Figure 8: Résultat de l'antibiogramme sur milieu Muller-Hinton	19

Remerciements

Nous remercions en premier lieu et avant tout le Grand Bon Dieu qui nous a éclairé le chemin, donné le courage, la force et la patience nécessaire pour parvenir jusqu'au dernier moment de ce long parcours d'études.

Nous présentons notre sincère gratitude à la personne qui nous a fait l'honneur en acceptant de nous encadrer pour ce travail et qui nous a dirigées, aidées et orientées par ses conseils et son soutien pendant toute cette année. Ce qui nous a permis de réaliser ce modeste travail.

Travailler sous votre direction a été pour nous un honneur. Votre grande disponibilité, patience et soutien nous ont beaucoup touchés .

A la personne qui mérite tout le respect et les remerciements notre chère promotrice le **Professeur Behidj-Benyounes Nassima**.

Nous tenons à remercier les membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent à **Madame Khemili Souad** qui a accepté la présidence du jury de ce mémoire. Nous exprimons également notre reconnaissance à **Madame Sayah Amna** qui a accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nos profonds respects et remerciement vont vers le responsable de la spécialité BTM de l'Université de Boumerdès, pour avoir données l'opportunité de faire cette formation de Master.

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont aidés, soutenus et qui nous ont donnés la main quand nous en avons besoin.

Dédicaces

*A l'hommage de mon chère papa : « **Boualem** » paix à ton âme , tu a toujours été là pour moi tu m as donné un magnifique modèle de labeur et persévérance . tu as toujours été là à mes côtés pendant tous mes études...merci pour tous mon amour, je ne pourrais jamais oublier ce que tu as fait pour moi jusqu'à la dernière minute de ta vie.*

*A ma très chère mère :« **Houria** »*

Autant de phrase aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi maman .tu m as comblez avec ta tendresse et affection tout le long de mon parcours .Et avec tes précieux encouragements. Merci ma chère maman

*A Mon cher frère : **Mohamed Adlen** .*

*A ma chère sœur : **Warda** .*

*A mes chères petites sœurs : **Sybille et Sofia**.*

*A mes chères cousins : **Mohamed Lamine , Othmane et Daoud**.*

A mes chères Tantes et Oncles .

*A Ma chère belle sœur :**Mila**.*

A mes chères cousines .

Meriem

Dédicaces

Du plus fond de mon cœur et avec l'intensité de mes émotions, j'offre ce modeste travail :

*A Ma tendre Mère **Lalahoum** : Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

*A Mon très cher Père **Nacer-eddine** : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.*

*A ma grande fille **Ania** : tu as illuminé ma vie et grâce à ta force que tu m'a offrir je ne serai pas là.*

*A la naissance de ma petite fille **Éline** : tu es ma puissance qui m'a permis de continuer ce travail ;*

Mes filles vous êtes ma plus belle histoire d'amour. Dès que je pose mon regardes sur vous j'esais pourquoi j'existe, je vous aime.

*A mon très cher mari **Mouloud** : Tes sacrifices, ton amour pour moi et ton soutien moral m'ont permis de réussir mes études. Ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

*Ma grande sœur **Selma** : mon bras droit, ladouce, au cœur si grand*

*Mon unique frère **Yacine** que j'adore*

*A ma petite sœur **Naila** l'aimable*

A LA MEMOIRE DE MES GRAND-PERES ET MES GRANDES-MERES et ma tante

J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans son paradis.

*A toutes ma famille : **FARSI. BOUCHEKIR ET BAKALEM***

A ma belle famille

*A mon binôme **Meriem***

A tout mes amies

A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer

Bouchera

Résumé :

L'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques est un problème mondial sérieux qui a orienté pour l'identification de nouvelles biomolécules avec une large activité antimicrobienne. De nombreuses plantes comme la sauge sont souvent utilisées dans la médecine. Ce travail devrait porter sur l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux récupérés à partir de la partie aérienne soit les feuilles et les tiges de *Salvia officinalis* (Linné) ou autrement dit la Saugue officinale.

Une synthèse bibliographie a été faite sur ce contexte. A cet effet, il a été montré que cette plante renferme des tanins, des saponosides, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des Stéroïls, des terpènes, des mucilages, des glucosides cardiotoniques, des coumarines, des amidons et des quinones libres. Il a été éventuellement exprimé un bon pouvoir antibactérien sur des souches pathogènes notamment les staphylocoques et un très bon pouvoir antifongique sur les champignons phytopathogènes.

Mots clé : *Salvia officinalis*, activité antimicrobienne, pouvoir antibactérien, pouvoir antifongique.

ملخص:

أصبحت زيادة المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية مشكلة عالمية خطيرة حيث وجهت الأبحاث لتحديد جزيئات حيوية جديدة ذات نشاط واسع مضاد للجراثيم. فغالبا ما تستخدم النباتات في الطب ومن بينها المريمية. حمل هذا العمل دراسة نشاط القوة المضادة للمكروبات من المستخلصات النباتية المستخرجة من الجزء الجوي الأوراق والسيقان من نبات سالييفيا أو فينالييس (لينيا) أو ما يعرف بالمريمية. تم سياق في هذا العمل ملخص ببليوغرافيا. لهذا الغرض; فقد تبين أن هذا النبات يحتوي على: الصابونوزيدات، القلويات، الفلافونويد، الستيرويدات والتربينات، الصمغ، جلوكونوزيدات مقويات القلب، الكومارين، النشويات، الكينونالحر. لقد تم البحث عن قوة مضادة للبكتيريا على السلالات المسببة للأمراض من بينهم: المكورات العنقودية، وعن قوة أخرى مضادة للفطريات المسببة للأمراض.

الكلمات الدالة: سالييفيا أو فينالييس، قوة مضادة للمكروبات، قوة مضادة للبكتيريا، قوة مضادة للفطريات.

Abstract:

The increase in bacterial resistance to antibiotics is a serious global problem that has led to the identification of new biomolecules with broad antimicrobial activity. Vegetal plants such as sage, are often used in medicine. This work will focus on the study of the antimicrobial activity of plant extracts recovered from the aerial part either the leaves and stems of *Salvia officinalis* (Linnaeus) or in other words, officinal sage. On this context a bibliography synthesis was made and it was shown that this plant contains tannins, saponosides, alkaloids, flavonoids, sterols, terpenes, mucilages, cardiac glycosides, coumarins, starches and quinones. A good antibacterial power was eventually expressed on pathogenic strains: staphylococci and a very good antifungal power on phytopathogenic fungi.

Keywords: *Salvia officinalis*, antimicrobial activity, antibacterial power, antifungal power.

Introduction

Selon l'O.M.S., plus de 22000 espèces végétales sont inventoriées comme plantes médicinales. Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'Homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. Depuis l'Antiquité les huiles essentielles isolées des espèces végétales présentent une activité antiseptique non négligeable. Elles sont utilisées dans de nombreux domaines à savoir en pharmacie, en cosmétique et en agro-alimentaire(Akgul et Kivanc, 1988).

Bien qu'une grande partie du XX^{ème} siècle a été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse et à la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies notamment les maladies humaines(Gurib,2006). Ainsi, de nouvelles recherches ont vu le jour, notamment dans l'espoir de traiter certaines maladies infectieuses par les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques. Ceci est de plus en plus fondé du fait de l'apparition de résistance des germes aux antibiotiques. Ces huiles sont douées de propriétés antimicrobiennes à des degrés divers. Elles ont des activités antifongiques, antivirales, antiparasitaires et également des propriétés insecticides(Bullerman, 1982; Kanstantopoulou et al., 1992; Bishop, 1995; Pessoa et al., 2002; Mari, 2003; Azzouz et al., 2007). Ainsi, les huiles essentielles qui présentent une bonne activité antibactérienne sont également de bons agents antifongiques(Pellecuer, 1973; Pellecuer et al., 1974). Selon Gurib (2006), plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes. Cependant, en tant que source de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale(Azzouz et Bullerman, 1982). Il est nécessaire de consommer avec modération *Salvia officinalis*. Ainsi, la réglementation dans certains pays limite les possibilités d'utilisation de la sauge officinale à cause de l'existence des composants chimiques qui peuvent être à l'origine d'accidents survenus lors de l'ingestion de trop fortes doses. Mais l'existence de propriétés intéressantes fait que, malgré l'existence de composants toxiques, on attribue à la sauge et ses extraits de nombreuses vertus médicinales(Pessoa et al., 2002). L'appellation latine démontre bien l'importance de la sauge dans la pharmacopée traditionnelle.

L'Algérie, par sa situation géographique offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années en raison principalement des effets

secondaires et au cout cher des médicaments de synthèse. A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, on s'est intéressé aux espèces de la famille des lamiacées qui est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien (**Kanstantopoulou et al., 1992**)

Lors de ce travail, on s'est intéressé à une espèce végétale très répandue dans le bassin méditerranéen et très utilisée pour ses nombreuses vertus thérapeutiques.

Il s'agit de *Salvia officinalis* L. ou la sauge officinale.

L'objectif de cette étude est de déterminer l'activité antimicrobienne des extraits végétaux récupérés à partir de la partie aérienne de la sauge officinale *Salvia officinalis*.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1 L'aromathérapie

I.1.1 Définition

L'aromathérapie désigne une branche particulière de la médecine par les plantes. Ce terme savant est composé de deux racines grecques « arôma » signifiant parfum et « thérapia » qui veut dire méthode ou soins visant à soigner la maladie et à soulager le malade. C'est une biothérapie qui met en œuvre des essences et des huiles essentielles pures extraites de différentes plantes aromatiques appréciées pour leurs propriétés thérapeutiques. Ainsi, elle repose sur la relation structure/activité. Il s'agit de la relation qui existe entre les composantes chimiques de ces huiles essentielles et leurs activités biologiques (Scimeca et al, 2005).

I.1.2 Historique

L'histoire de l'aromathérapie remonte à soixante mille ans quand les rites mystiques, magiques et religieux allaient de pair avec les pratiques thérapeutiques. Pour bien cerner cette thérapeutique, il est utile de faire un grand bond en arrière et de suivre l'évolution de l'aromathérapie à travers les âges, les continents et les civilisations. L'aromathérapie s'est développée autour de quatre grandes époques. La première basée sur l'utilisation des plantes aromatiques dans l'alimentation sous forme de macération et d'infusions ou de décoctions. Dans la seconde période, les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser dans une huile végétale. A cette époque apparaissait la notion d'activité liée à la substance odorante. Durant la troisième époque, l'extraction de cette substance odorante apparaît, c'est la naissance du concept d'huiles essentielles. Puis arrive la période moderne, à travers l'utilisation des huiles essentielles dans les activités physiques, chimiques, et enfin thérapeutiques qui a donné à l'aromathérapie un statut plus scientifique, grâce aux découvertes de leurs composants chimiques (Claude, 2010).

Les trois grands berceaux géographiques; l'Indus (continent Indien), la Chine et le Bassin méditerranéen nous ont légué des procédés aromatiques et des Connaissances dont la validité

est toujours actuelle (**Roque, 2011**). En Egypte, entre 3000 et 2000 ans avant Jésus-Christ, dans cette époque l'utilisation des huiles essentielles fait un grand usage dans l'embaumement des morts (momies), l'anesthésie et les soins de diverses maladies (**Sommerard, 2006**). Le continent indien est une des régions du monde la plus riche en plantes aromatiques. Elles y sont depuis de longue date à l'honneur dans le traitement des troubles de la santé (**Claude, 2010**). En Mésopotamie, une inscription remontant à plus de 4 000 ans fait mention de l'utilisation d'huiles aromatiques dans le cadre de rites religieux et pour lutter contre les épidémies. En Chine, il y a 4500 ans environ. Autour du bassin méditerranéen, l'usage des plantes aromatiques occupe une place prépondérante aussi bien dans la vie quotidienne que lors de rituels (**Claude, 2010**). Au moyen-âge, les croisades permirent de rapporter l'art de la distillation. Ce sont des médecins alchimistes européens, qui alors réalisèrent des études sur les plantes aromatiques en approfondissant les connaissances léguées par les médecins de l'Antiquité. Ce n'est que vers le XIX^e siècle, qu'on a commencé à étudier sérieusement les composants des huiles essentielles et leurs activités pharmacologiques. Mais le terme aromathérapie est relativement récent puisqu'il remonte au début du XX^e siècle seulement. Le pharmacien René Maurice Gattefossé créa le terme «Aromathérapie».

Jean Valnet, surnommé Docteur Nature qui reprit les travaux de Gattefossé et fût le premier à définir de manière scientifique le pouvoir thérapeutique des huiles essentielles dans les années 60 (**Corbel, 2012**).

1.2 La sauge *Salvia officinalis*

1.2.1 Historique

La sauge tire son nom du latin *salvare* (guérir) qui traduit son rôle ancestral en phytothérapie (**Hippolyte et al., 1904**). Elle était une des plantes salvatrices du moyen âge. Elle est reconnue par les Chinois. Ces derniers n'hésitaient pas à échanger leurs feuilles de thé les plus précieuses contre des feuilles de sauge. D'après l'histoire, une variété de sauge appelait « Chia » était cultivée par les mexicains (**Madi, 2010**). Les Grecs, les Romains et les Arabes l'employaient communément comme tonique, et en compresse contre les morsures de serpents. En Egypte les femmes en buvaient pour être fertile (**Charles, 1809**).

1.2.2 Généralités sur la sauge

Salvia est une plante annuelle et biennale d'origine méditerranéenne de la famille des labiées (**Djerroumi et Nacef, 2004**). Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde (**Longaray et al., 2007; Maksinovic et al., 2007**). En Algérie, les espèces déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine. Plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon, Ibn El Beytar, les andalouses la nomment « essalma » et les botanistes espagnols l'appellent « salbia ». En Algérie, elle est connue sous le nom « souekennebi » (**Khiredine, 2013**).

1.2.3 Description

Il s'agit d'une plante annuelle et vivace appartenant à la famille de Labiées (**Goutier, 2009**). Elle forme un petit sous arbrisseau de 50 cm à 80 cm de haut à racine ligneuse, brunâtre, et fibreuse. Sa tige est ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 60 cm. Ainsi, les rameaux sont verts et velus. Les feuilles opposées, elliptiques, inférieures pétiolées, ovales, rugueuses, épaisses, à bord dentelé, réticulées, pubescentes-grisâtres ou vertes, à dessus blanchâtre et finement crénelées. Elles persistent pendant l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protègent (Figure 1). Les fleurs de la sauge officinale sont bleu-violacé en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés et visibles du mois de mai au mois d'août. Elles sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures (Figure 2). Le fruit en forme de tétrakènes brunâtre. Ainsi, il se compose de quatre petites coques indéhiscentes, renfermant chacune une graine (Figure 3). (**Aug et al., 1833; Cuvier et al., 1835; Busser, 1997; Verbois, 2003; Hans et al., 2007**).



Figure 1: Feuilles de la sauge officinale (**Hans et al., 2007**)



Figure 2: Fleur de la sauge officinale (Busser, 1997).



Figure 3: Fruits de la sauge officinale (Cuvier et *al.*, 1835) .



Figure 4 : *Salvia officinalis*

1.2.4 La partie utilisée

La sauge dégage une forte odeur balsamique (Gilly, 2005). Les parties utilisées sont les sommités fleuries et les feuilles qui doivent être récoltées avant la floraison. Elles fournissent une huile volatile jaune pâle, contenant un huitième de camphre et un hydrolat très odorant (Aouadhi, 2010).

1.2.5 Odeur et saveur

L'odeur de cette plante est très aromatique camphrée, avec une saveur chaude, amère et piquante (Cuvier et al., 1835).

1.2.6 Systématique

Selon Hippolyte et al., (1993), elle est classée comme suit.

Régne : plantae

Embranchement : Spermatophyta

Sous-embranchement : Angiospermae

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia officinalis* L

1.2.7 Origine et répartition

Depuis l’Espagne jusqu’a la Turquie, et au nord de l’Afrique, cette plante est assez commune en Algérie (cultivée).Elle se rencontre sur les sols arides et calcaires des plaines, des garrigues et en basse montagne jusqu’à 800 mètres d’altitude. Elle se développe dans le bassin méditerranéen, en Amérique du nord et dans l’Asie occidentale. Les populations de la sauge sont sub-spontanées. Si on cultive la sauge officinale et ses variétés à feuillage décoratif dans les jardins, c’est dans les carrés des plantes médicinales qu’elle trouve sa véritable place depuis l’antiquité (Goutier, 2009).

1.2.8 Culture

La sauge officinale est une plante pérenne de plein soleil facile à cultiver dans les jardins comme plante d’ornement (Figure 5). Les feuilles sont utilisées comme condiment. Le marcottage reste le mode de multiplication le plus simple, étant donné que la sauge se marcotte naturellement. En ce qui concerne l’entretien des pieds, on apporte un peu de compost en surface au printemps et on taille légèrement les tiges pour redonner la forme à la touffe et favorise le développement de nouvelles pousses. Elle est fréquemment cultivée sur une terre sèche et légère préparée par de profonds labours, si on veut conserver les qualités Pour le développement de la plante, les meilleurs sols sont sablonneux ou de type terreux La récolte de la plantes se fait habituellement de Mai à Juillet pendant la floraison (Hoefler, 1994;Bogrow, 2009).



Figure 5: Calendrier de la période de semis à la récolte de *Salvia officinalis* (Hoefler, 1994).

1.2.9 Les effets indésirables de la sauge

L’essence de la sauge est toxique et peut provoquer des crises d’épilepsie et des crises cardiaques. Elle est déconseillée aux femmes enceintes ou en allaitement(Hans et al., 2007).

1.3 Les métabolites produits

Les métabolites secondaires sont des molécules qui apparaissent nécessaires pour une croissance normale ou ne sont nécessaires que dans des conditions spécifiques. Tandis que, les métabolites primaires sont impliqués dans les fonctions physiologiques (Goyal et al., 2011). Ainsi, ces molécules jouent un rôle clé dans l'adaptation des plantes à leur environnement. Mais, elles constituent également une source importante de produits pharmaceutiques efficaces (Bourgaud et al., 2001).

1.3.1 Composés phénoliques

D'après Shalaby et al., (2015), les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui jouent un rôle important contre le stress (Figure 6, 7). Ces composés naturels sont issus de la lignine provenant des plantes supérieures (Bahram et Herve, 2000). Elles sont une grande classe des métabolites secondaires de plantes, présentant une diversité de structures, à partir de structures plutôt simples. On a par exemple, l'acide phénolique, à travers des polyphénols tels que les flavonoïdes, qui comprennent plusieurs groupes, en composés polymères fondés sur ces différentes classes (Cheynier, 2012).

La composition des composés phénoliques dépend de la présence d'au moins un cycle benzène directement lié à un ou plusieurs groupes hydroxyles libres. A ce niveau, il joue un rôle dans une autre fonction telle que l'éther, l'ester et l'hétéroside (Bruneton, 2009).

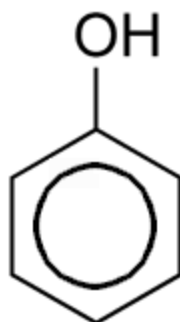


Figure 6: Structure du phénol (Clarke, 2008)

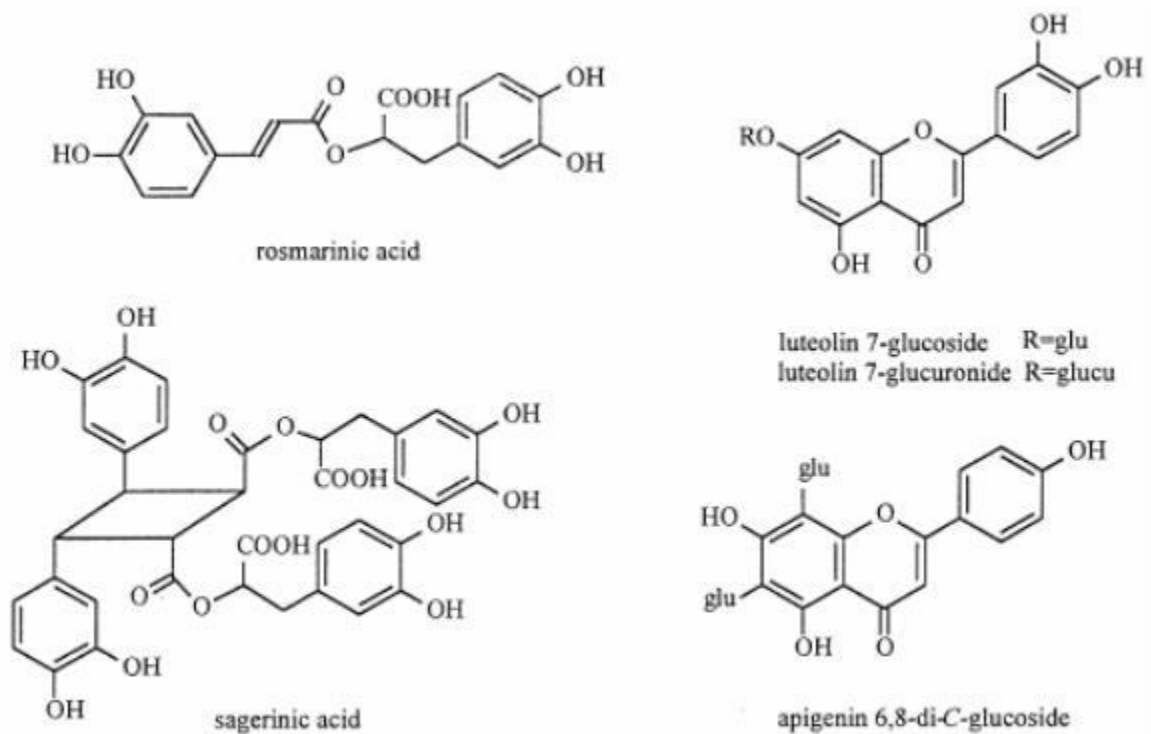


Figure 7: Structures chimiques des polyphénols (Lu et Yeap, 2001).

La sauge contient 5% de tanins, 5,5% de résine, 6% de gomme du mucilage, des acides phosphoriques oxaliques, des nitrates, 9% de pentosane, des traces d'aparagone et de 1,5 % à 2,5 % d'huiles essentielles dite huile de sauge, renfermant de la thuyone, ducinéole, du camphre des terpènes salive et pirosalive, avec de nombreux polyphénols. Parmi les polyphénols, on a les flavonoïdes et les acidesphénolstels que l'acide caféique, l'acide chlorogénique, et l'acide rosmarinique. En outre, la sauge renferme de l'acide diterpénique qui lui donne ses vertus bactéricides et un principe amer soit la picrosalvine (Ryberg, 1991; Gilly, 2005). Elle est également une excellente source de vitamine K, A et C. On y trouve en outre un peu de fibres, des folates, du magnésium, du potassium, calcium et du manganèse (Fruleux, 2009). Selon Ghorbani et Esmailzadeh (2017), les principaux composés phytochimiques des fleurs, des feuilles et de la tige de *S. officinalis* sont bien identifiés. Le linalol est le composé phytochimique le plus présent dans la tige. Dans les fleurs, on trouve à plus haut niveau le pinène, le cinnéole, l'acétate de bornyle. Ainsi, le camphène, le camphre, l'humulène, le limonène et la thuyone sont les composés photochimiques les plus présents dans les feuilles. Cependant, il convient de considérer que comme les autres herbes, la composition chimique de

S. officinalis est modifiée en fonction des conditions environnementales telles que le climat, la disponibilité de l'eau et l'altitude.

1.4 Les propriétés de la sauge

Salvia officinalis est une panacée toujours très appréciée. Elle est utilisée dans la pharmacopée moderne non seulement en médecine, en cuisine mais aussi dans l'industrie du parfum (Gotz et al., 2007).

1.4.1 Les propriétés médicinales

La sauge est l'herbe de la vie. Elle contient un fort taux en œstrogènes, des diterpènes, des triterpènes, des flavonoïdes, des tanins, des principes amers ainsi que une huile essentielle à thuyone. Cette plante sacrée de toutes vertus est connue depuis la nuit des temps grâce à leur efficacité. Elle renferme de l'acide ursolique, dont l'action astringente. La sauge a des propriétés anti-oxydantes. Ainsi, elle possède un pouvoir antiseptique d'où son efficacité dans le développement des agents infectieux. Cette admirable plante est utilisée en gargarisme. Elle est considérée comme un remède contre les maux de gorge (Iserin, 2001). Elle a une activité antispasmodique. De ce fait, elle est employée lors des troubles digestifs à savoir la digestion difficile, les renvois d'air et les ballonnements (gaz intestinaux). Elle a une action relaxante sur les muscles de l'estomac et des intestins. En agissant sur la sécrétion de la bile, elle facilite la digestion des aliments gras (Bogrow, 2009). Elle est utilisée dans la fatigue nerveuse, l'anxiété accompagnée de perte de mémoire, dans les états dépressifs. Elle a une activité tranquillisante qui peut calmer les crises de la maladie d'Alzheimer en luttant contre la baisse du taux d'acétylcholine. Elle est indiquée lors d'une infection virale avec fatigue, dans les suites de chocs émotionnels. Il s'agit aussi d'un excellent fortifiant après une fausse couche. Elle est conseillée dans les troubles menstruels, dans la ménopause, comme les bouffées de chaleur et les vertiges. Elle soulage des sueurs nerveuses, lorsqu'il y a transpiration excessive. Elle favorise la longévité (Funiel, 2002). Elle est employée comme remède contre l'asthme. La sauge est traditionnellement utilisée pour soigner l'asthme sous forme de préparation de feuilles séchées à fumer (Boulard, 2001). Il est à noter que *Salvia officinalis* a une action antimicrobienne. Ainsi, elle soigne les lésions bénignes de la peau (coupures, acné) et favorise aussi l'hygiène buccale en limitant le développement des bactéries responsables de la formation de la plaque dentaire (Verbois, 2003).

I.4.2 Les propriétés culinaires

Actuellement, la sauge est vénérée comme une herbe sacrée (**Loeuillart, 1821**). Elle a un parfum très prononcé et elle sert principalement en cuisine (**Nilson et al., 2008**).

Les feuilles sont utilisées en aromate. Leur gout légèrement amers, puissants et camphrés, accommodent parfaitement les viandes blanches, les plats lourds et gras (**Goutier, 2009**). Les fleurs sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour la confection de confitures, en vinaigre odorants et certaines boissons sont aromatisées à la sauge (**Bharet et al., 2011**).

I.4.3 Les propriétés en phytocosmétologique

La cosmétologie emploie les plantes depuis ses origines. Elles apportent des activités bio pharmacologiques en raison des différents composants qu'ils contiennent (**Wilson, 2008**). L'huile essentielle de sauge sert à la fabrication de parfums, de savons, de dentifrices et d'autres produits cosmétiques. Elle est aussi utilisée en aromathérapie lors des bains et des massages (**Gotz et al., 2007**).

I.4.4 Autres propriétés

Elle était mélangée aux graisses de certains vertébrés, pour faire une pommade utilisée contre les mammites des vaches (**Bhar et Balouk, 2011**).

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1 Matériel utilisé

Le matériel végétal choisi est constitué des feuilles et des tiges de *Salvia officinalis*. On devrait le collecter et le sécher sur du papier à l'ombre et à température ambiante à savoir dans un endroit sec à l'abri de l'humidité pendant quelques jours (**Laouer et al., 2003**).

II.1.1 Le matériel microbiologique

Un certain nombre de microorganismes non pathogènes pour l'Homme devrait être testés.

II.1.2 Matériel non biologique

On a de la verrerie, un appareillage, des antibiotiques, des milieux de culture et des produits chimiques.

II.2 Méthodes

II.2.1 Méthodes d'extraction

Plusieurs méthodes sont mises en évidence pour l'obtention des extraits de la sauge :

II.2.2 Extraction par filtration

Les feuilles et les tiges de *Salvia officinalis* ont été utilisées dans la préparation des extraits aqueux par décoction selon la méthode décrite par **Kaneria et al., (2012)**.

On a mis 10g de la poudre végétale dans 100ml d'eau distillée dans l'érline au bain Marie pendant 20minutes sur une plaque chauffante à une température de 200°C. Une fois l'extrait prêt, on filtre deux fois, la première avec un papier filtre et la deuxième par un papier 0,22mm. Le décocté est centrifugé pendant 5minutes. La conservation du surnageant récupéré a été faite

dans des tubes à vice stériles au réfrigérateur entre 4 et 6°C pour éviter tout risque de dégradation des extraits sous l'action de l'air.

II.2.3 Extraction par la méthode de soxhlet

25 g de la poudre d'organe utilisée de la plante sont placés dans une cartouche contenant 250ml de dichlorométhane comme solvant d'extraction. Après six heures d'extraction, le solvant est éliminé sous vide pour conduire à un résidu sec qui sera conservé à 4°C pour son utilisation ultérieure (Olfa et al., 2012).

II.3 Identification des extraits

II.3.1 Etude qualitative ou photochimique

L'étude photochimique qualitative permet de détecter différentes familles chimiques présentes dans la plante par des réactions de coloration et de précipitation. Ces tests sont réalisés soit sur la poudre végétale, soit sur l'infusé. Les résultats des tests photochimiques sont les suivants :

II.3.1.1 Tanins

Sur 2ml de la solution à tester, on ajoute 2 à 3 gouttes de solution FeCl₃ à 2%. Un résultat positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu noir et un précipité obtenu quelques minutes après (Karumi et al., 2004)

II.3.1.2 Saponosides

5 ml de trois extraits aqueux, acétone, étherique bien mélangés avec 10ml d'eau distillée. La présence des saponosides est confirmée par la formation d'une mousse persistante 15 minutes après (Karumi et al., 2004)

II.3.1.3 Alcaloïdes

On prend 10g de la drogue végétale pulvérisée. On ajoute à cette poudre quelques millilitres de HCL à 1% et on laisse le mélange en macération pendant 30 min. Le mélange est ensuite filtré. On ajoute le réactif de Mayer au filtrat. L'apparition d'une solution trouble indique la présence d'alcaloïdes (Dohou et al., 2003)

II.3.1.4 Flavonoïdes

On met 10g de poudre sèche de la drogue, dans 150 ml d'une solution de HCL diluée à 1%. On la laisse macérer pendant 24h. Après filtration, on procède au test suivant. On prend 10 ml du filtrat, on le rend basique par l'ajout d'une goutte de NH₄OH. L'apparition d'une couleur marron dans la partie supérieure du tube à essai indique la présence de flavonoïdes (**Okumu, 2005**).

II.3.1.5 Stérols et terpènes

A 2 ml de la solution aqueuse présentée par le filtrat de la poudre de la plante, on ajoute 5 ml de CHCl₃ et 2 ml d'acide acétique. Par la suite, on ajoute quelques gouttes de H₂SO₄. Un cercle marron clair est formé dans la zone de contact entre les deux liquides. Ceci indique la présence de stérols et terpènes (**Rafia et al., 2010**).

II.3.1.6 Mucilages

A 1 ml de la solution à analyser, on ajoute 5 ml de l'alcool absolu (alcool à 95 %). L'apparition de précipités floconneux montre la présence de mucilage (**Adiaratou, 2001**).

II.3.1.7 Glucosides cardiotoniques

5ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl₃ et 5ml de d'acide sulfurique contenant les traces de FeCl₃ pour 1ml de chaque extrait. La réaction de Keller-Kilani est basée sur ce test.

La formation de deux phases, une colorée en brun rouge (acide acétique) et l'autre en bleu – vert (acide sulfurique) confirme la présence de glucosides cardiotoniques(**Edeoga, 2005**).

II.3.1.8 Coumarines

A 1 ml de chaque extrait, on ajoute 1 ml d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont la première représente un témoin et la deuxième est traitée avec 0,5 ml de NH₄OH à 10%.L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines(**Bruneton, 1999**).

II.3.1.9 Amidon

On traite l'extrait aqueux avec le réactif d'amidon. La présence d'amidon est confirmée par l'apparition d'une coloration bleu violacée(**Benmehdi, 2000**).

II.3.1.10 Quinone libre

A un volume de 1 ml de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH à 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones Libres (**Oloyede, 2005**)

II.4 Détermination de l'activité antimicrobienne des extraits étudiés

II.4.1 Activité antifongique

II.4.1.1 Les milieux de culture utilisés pour déterminer l'activité antifongique

La gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA) est favorable pour la croissance des champignons. (**Bougrow, 2009**)

II.4.1.2 Etude macroscopique et microscopique

II.4.1.2.1 Etude macroscopique

Cet examen est basé sur l'observation à l'œil nu de plusieurs caractères cultureux des colonies à savoir la viscosité, le diamètre, le contour, le relief et la couleur des colonies.

II.4.1.2.2 Etude microscopique

Lors de l'analyse microscopique des colonies, plusieurs structures des champignons filamenteux sont observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores.

II.4.1.3 Détermination de l'activité antifongique

L'activité antifongique a été évaluée par la méthode de dilution en milieu solide pour déterminer les taux d'inhibition de la croissance et en milieu liquide pour déterminer de la CMI. La concentration minimale inhibitrice 50 % ou (CI50) correspond à une croissance égale à la moitié de la croissance du témoin. Dans les mêmes conditions expérimentales, les souches fongiques ont été mises en culture en absence d'huile essentielle et ont servi de témoins positifs (**Bousseboua, 2006**).

L'ensemencement des souches testées est fait par dépôt d'un disque mycélien (6mm de diamètre) au centre. Ainsi, les boîtes de Pétri sont mises à incuber respectivement pendant 7 jours. Des témoins non traités par l'extrait sont préparés dans les mêmes conditions. Quotidiennement, la croissance de filaments sur chaque boîte est relevée. Outre, il est procédé à la fin du temps approprié (7 jours) d'incubation, à une mesure des diamètres des différentes colonies de champignons filamenteux pour calculer le taux d'inhibition (I'%) (Kordaliet al., 2003)

Pour cette méthode, la technique consiste à mesurer les diamètres des différentes colonies de champignons après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation suivante:

$$I' (\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

I' (%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

dC = Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins positifs »

dE = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

II.4.2 Activité antibactérienne

II.4.2.1 Activité antibactérienne des extraits obtenus

La détection des propriétés biologiques nécessaires pour la survie des plantes est parmi les bases dans la recherche des propriétés biologiques similaires pour combattre différents microorganismes responsables de plusieurs maladies infectieuses chez l'Homme et l'animal. Ces recherches ont tendance à faire face à la résistance aux antibiotiques des micro-organismes pathogènes (Miguel, 2010).

Plusieurs études montraient l'efficacité des extraits de la sauge contre les agents microbiens parmi ces extraits on cite les flavonoïdes, les huiles essentielles et les terpènes (Rojas et al., 1992). Ainsi, les huiles essentielles de la sauge ont un effet antibactérien spécifique contre les coques gram+ (Piberi., 2005)

II.4.2.2 Choix des milieux de culture

Afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne des extraits de la sauge les milieux de cultures utilisées sont le milieu Mac Conkey, Gélose Chapman, la gélose Mueller-Hinton

(pH = 5,7). Afin de comparer l'effet antibactérien des extraits avec celui des antibiotiques (Benkhrara *et al.*, 2011).

II.4.2.3 L'antibiogramme ou L'antibiogramme standard en milieu gélosé ou méthode des disques

II.4.2.3.1 Principe général

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton, éventuellement additionnée de sang. Des disques pré-imprégnés d'une dose de l'extrait à tester sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.

II.4.2.3.2 Préparations des suspensions bactériennes

A partir des cultures bactériennes préalablement réactivées sur milieu Mueller-Hinton à une température de 37 °C pendant 24 heures, des suspensions bactériennes sont préparées dans de l'eau physiologique stérile et homogénéisées de façon à obtenir une concentration de l'ordre de 10⁶ à 10⁸ C.F.U/ ml. Après ensemencement des bactéries, les disques imprégnés du produit à tester seront appliqués (Benkhrara *et al.*, 2011).

II.4.2.3.3 Technique

En pratique, on réalise à partir de l'isolement (souche pure) un ensemencement en tapis sur le milieu (Figure 8). On dispose ensuite les disques imbibés par l'extrait et on place à l'incubateur. Au bout de 24 h, on mesure les différents diamètres d'inhibition.

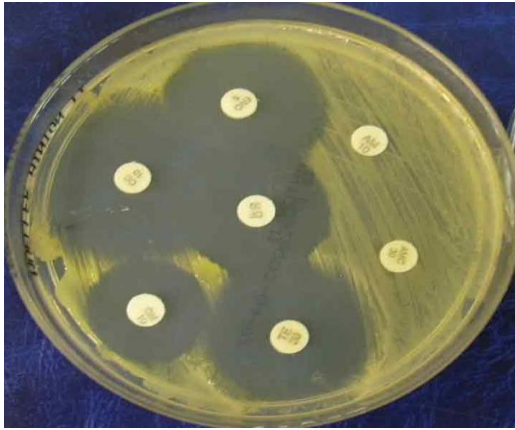


Figure 8: Résultat de l'antibiogramme sur milieu Muller-Hinton

II.4.2.3.4 Interprétation

Selon **Ponceaet al.,(2003)**, les résultats de l'antibiogramme indiquent:

- Bactérie sensible, le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 15 et 19mm.
- Bactérie très peu sensible, le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 9 et 14 mm.
- Bactérie résistante, le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 8 mm.

Chapitre III

Synthèse des résultats

III.1 Résultat et discussion :

Les plantes médicinales sont plus répandues dans le monde. Ainsi, elles ont un effet contre les bactéries, les virus et les champignons. A cet effet, elles ont ouvert des portes aux chercheurs afin de réaliser des études sur les extraits des plantes notamment les médicinales.

Les feuilles de *Thymus vulgaris* sont très riches en substances phénoliques et possèdent une activité antimicrobienne que celle de *Laurusnobilis* avec un spectre plus large et des doses moins faibles. Ceci dit que l'activité antimicrobienne est due à la présence de ces composées chimiques (Yakhlefet *al.*, 2011).

Il a été aussi prouvé qu'un effet inhibiteur important des extraits de *Prangos asperula* contre des bactéries Gram+ et des bactéries Gram- à un taux compris entre 90 et 100% et aussi contre la levure *Candidat albicans* à 100%. Selon Bouaoun *et al.*, (2007) l'extrait de *Myrtusnivellei* Batt et Trab (Myrtaceae) récolté in situ est riche en polyphénols et présente une activité antimicrobienne importante contre *Staphylococcus aureus* (CMI=2,25 mg/ml), *Staphylococcus pneumoniae*, *Staphylococcus flexineri*, *Staphylococcus typhi* et *Candida albicans* (CMI=4,5 mg/ml). Par contre, les extraits testés in vitro avaient un effet antimicrobien nul (Touaibia *et Chaouche*, 2017)

Une autre étude sur l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique d'*Enicostemma littorale* contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus fumigates* et *Aspergillus flavus* a donné des résultats intéressants par rapport aux extraits méthanolique et acétonique. Ainsi, les extraits issus de la tige mature présentent une excellente activité antimicrobienne que celle des feuilles et des racines, qui contiennent d'autres métabolites secondaires (Hediat MH Salama *et al.*, 2010).

Six huiles essentielles issues de *Lavandulalatifolia*, *Lavandulaangustifolia*, *Rosmarinusofficinalis*, *Origanumvulgare*, *Thymus vulgaris* et *Thymus zygis* ont montré une activité antibactérienne contre *Escherichia Coli* (Ohno *et al.*, 2003)

Khalil et al., (2011) et **Khedher et al., (2017)** montrent que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. possède un effet antibactérien redoutable sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les huiles essentielles ont une forte action antibactérienne vis-à-vis des bactéries Gram + par rapport aux bactéries Gram- parce que les bactéries Gram- sont protégées grâce à leur membrane externe riche en lipopolysaccharides autour de leur paroi cellulaire (**Wan, 1998**). Aussi, la charge négative sur la surface de cette dernière empêche la diffusion des molécules hydrophobes (**Delamare et al., 2007**). Alors, l'activité antibactérienne se traduit par la lyse de la membrane bactérienne.

Daroui-Mokaddem (2012) montre que l'activité antibactérienne dépend non seulement de l'espèce microbienne testée, mais aussi de la composition chimique de l'huile essentielle et précisément la nature de son composé majeur.

Un travail effectué sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* contre *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* par la méthode de l'antibiogramme et celle de l'aromatogramme a montré qu'*Escherichia coli* est plus sensible à l'huile essentielle qu'aux antibiotiques tels que la Vancomycine et l'Erythromycine. Ainsi, les antibiotiques utilisés sont plus efficaces face à *Staphylococcus aureus* que l'huile essentielle.

Il est à mentionner que *Pseudomonas aeruginosa* est résistante face à l'huile essentielle de la sauge et aux antibiotiques. Cette bactérie est connue par sa résistance aux agents antibactériens car elle a une capacité de créer un biofilm **Khedher et al., (2017)**.

L'huile essentielle de la sauge a aussi des molécules bioactives qui sont efficaces contre les champignons phytopathogènes. Une étude a montré que *Botrytis cinerea* est plus sensible à l'huile essentielle que *Fusarium sambucinum* (**Safa et al., 2013**)

Ce travail de recherche est réalisé dans le cadre de l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Salvia officinalis* sur des bactéries et des champignons.

L'extraction de l'huile essentielle de la plante *Salvia officinalis* est réalisée par la méthode de filtration et la méthode du Soxhlet.

Salvia officinalis est une espèce végétale de nature aromatique et médicinale dont so

Sur la base des preuves disponibles dans la littérature et par la méthode de l'aromatogramme; elle présente une activité antibactérienne face à *Escherichia Coli* et *Staphylococcus aureus* et une activité antifongique face aux champignons et notamment les champignons phytopathogènes. Par conséquent, Elle peut être utilisée dans le domaine de la protection des végétaux comme produit antifongique.

Il serait préférable toute fois d'approfondir et d'appliquer les recherches précédentes afin d'évaluer le pouvoir antimicrobien de la sauge.

REFERENCES

- **ADIARATOU. T.**, Étude de la phytochimie et de l'activité antipaludique de *Alchornea cordifolia* Schmach (*Euphobiaceae*). Doctorat en pharmacie, Bamako (Mali), 2001, P60.
- **Akgul A, Kivanc M** (1988) Inhibitory effects of selected Turkish species and oregano components on some food borne fungi. Intern J Food Microbiol 6:263–8
- **Ana Paula Longaray D, Ivete TMP, Liane A, et al** (2007) Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and drugs of tomorrow. Mol Aspt Med 27:1–93
- **AOUADHI. S.**, Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle a étude de 57 plantes recommandées par les herboristes, mémoire de master, à la faculté de médecine de Tunis, 2010, 76p. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 195-202.
- **AUG. M. M.**, Mémoires de la société de physique et d'histoire naturelle de Genève, Volume 5, 504p, 1833.
- **BENKHERARA. S., BORDJIBA. O., BOUTELIS. D. A.**, Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes, Laboratoire de biologie végétale et environnement, Faculté des sciences, Département de biologie, Université Badji Mokhtar, BP12, Annaba, Algérie, Vol 23, p72-80, 2011.
- **Benmehdi H.** valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Mémoire en chimie (Magistère) Tlemcen. 2000.
- **BHAR. H., BALOUK. A.**, Les Plantes aromatiques et médicinales, le Centre de Recherche Forestière et l'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques, Maroc, 27p, 2011.
- **Bishop CD** (1995) Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betche) Cheel (tea tree) against
- **BOUGROW. S.**, Reconnaître les champignons les plante et baies sauvages, E/P/A, 410 p, 2009.
- **BOULLARD. B.**, Plantes médicinales du monde croyances et réalités, Boeck secundair, 636p, 2001.
- **Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E.** (2001). Production Of Plant Secondary Metabolites: A Historical Perspective. Plant Science, 161(5), 839–851.
- **Bousseboua H. (2006)** : Eléments de microbiologie générale. 32 : 160- 167.
- **BouzaouiNassima,HaridiZeyneb.** Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. Université 08 Mai 45 Guelma.GuelmaAlgerie.

- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3^{ème} Edition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 3^{ème} édition, TEC et DOC. Paris, p :310-312-318-319-321-370-371-372-463-783-784790.1292.
- **BUSSER. C.,** Se soigner par les plantes du XIV^{ème} au XX^{ème} siècle, Université de Paris et Strasbourg, 210p, 1997.
- **CHARLES. J., SCHWILGNE. A.,** Traité de matière médicale, 2^{ème} Edition, J.A. Brosson, 347p, 1809.
- **Cheynier, V. (2012).** Phenolic Compounds: From Plants To Foods. *Phytochemistry Reviews*, 11(2-3), 153–177. Doi:10.1007/S11101-012-9242-8
- **CLARKE, S. (2008).** Families of compounds that occur in essential oils. *Essential Chemistry for Aromatherapy*.
- **CLAUDE. J.,** L'aromathérapie pédiatrique, Mémoire de Magister, 2010, 48p.
- **CORBEL. S.,** Aromathérapie et problèmes digestifs Guide pratique à utiliser à l'officine, avril 2012, 16p.
- **CUVIER. G., RICHARD. A., AUGUSTE. P., DRAPIEZ. J.,** Histoire naturelle médicale et pharmaceutique, H. Dumont, 501p, 1835.
- **CUVIER. G., RICHARD. A., AUGUSTE. P., DRAPIEZ. J.,** Histoire naturelle médicale et pharmaceutique, H. Dumont, 501p, 1835.
- **D.Bouaoun, C.Hilan, F.Garabeth, R.Sfeir, 2007,** Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos Asperula* Boiss .
- **Daroui-Mokaddem H., 2012,** Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniolumolusatrum* (Apiaceae), *Asteriscusmaritimus* et *chrysanthemumtrifurcatum* (asteraceae). Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar-Annaba. P8,14,28 de Montpellier 3:584–5.
- **Delamare A.P.L., I.T. Moschen-Pistorello, L. Artico, L. Atti-Serafini, and Echeverrigaray S., 2007.** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chem.*, vol 100, p.p. 603-608.
- **Djerroumi A., & Nacef M. (2004).** 100 plantes médicinales d'Algérie. *Ed Palais du livre*. P 135 -131.
- **DUHOU.N., YAMNI.K., TAHROUCH.S.,** Screening phytochimique d'une plante endémique Ibero-Marocaine, *Thymenloaly thyroïdes*. *Bull Soc phrm. Bordeaux* 142:61-78, 2003.
- **Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO.** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 2005; 4(7): 685-688.
- **Fleurentin J (2008)** Plantes médicinales : Traditions et thérapeutique (ed) Ouest-France from Dalmation Sage (*Salvia officinalis* L.) variations among
- **Fruleux, L.** Monographie *Salvia officinalis*. PDF. 2008/2009.
- **G. Yakhlef1, S.Laroui1, L.Hambaba1, M.-C. Aberkane, A.Ayachi, 2011,** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurusnobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. Batna, Algérie.

- **Ghorbani, A., & Esmaeilizadeh, M. (2017).** Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(4), 433-440.
- **Gilly, G. (2005).** Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à grasse.botanique,culture,chimie production et marché. Edition l'Harmattan, 414p
- **GOTZ. P, BUSSER. C.,** La phytocosmétologie thérapeutique, springer, 188p, 2007.
- **GOUTIER. J.,** L'herbier des jardins collection de plantes vivrières aromatiques médicinales et ornementales, La Maison Rustique Flammarion, 2009.
- **Goyal, S., Lambert, C., Cluzet, S., Méryllon, J. M., & Ramawat, K. G. (2011).** Secondary Metabolites And Plant Defence. **43-Plant Defence: Biological Control**, 109–138
- **Gurib-Fahim A (2006)** Medicinal plants: Traditions of yesterday
- **HANS. D., KOTHE.W.,** 1000 Plantes aromatiques et médicinales, Terres Edition, 2007.
- **Hediat MH Salama, Najat Marraiki.** Antimicrobial activity and phytochemical analyses of *Polygonum aviculare* L. (*Polygonaceae*), naturally growing in Egypt. *Saudi J of Biol Sci* 2010 ;17:57-63.
- **HIPPOLYTE. I., ALLAIN. P., PELLECUER. J.,** Variation de la teneur de certains composés de l'huile essentielle de la sauge (*salvia officinalis* L.) en fonction de divers états physiologiques.huile essentielle, biochimie, *salvia officinalis*, micropropagation, vitroplant, terpène, société botanique de France. *Acta Bot. gall. Bull. Soc. Bot. Fr* (1904). Tome 140-Fascicule 2, p 225-225,1993.
- **HOEFLER. C.,** Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis*.L, et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques anti hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques, Thèse Doctorat de l'Université de Metz, 1 994,170p.
- **Iserin. P.,** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse, 335p, 2001.
- **Kaneria M., Kanani B., Chanda S. (2012).**Assessment of effect of hydroalcoholic and decoction methods on extraction of antioxidants from selected Indian medicinal plants.
- **Kanstantopoulou I, Vassilopoulou L, Mavragani-Tsipidou P, Scouras ZG (1992)** Insecticidal effects of essential oils: A study of the effects essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants
- **KARUMI. Y., ONYAYILI. P. A, OGUGBUAJA. V. O.,** Identification of active principales of *M. balsamina* (balsam Apple) leaf extract .*J. Med. Sci.* 4:179-182, 2004.
- **Khedher, M. R. B., Khedher, S. B., Chaieb, I., Tounsi, S., & Hammami, M.,2017,**Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI journal*, 16, 160.
- **Kordali S., Cakir A., Zengin H.& Duru M. E,2003.** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia.* 74 p: 164-167.
- **Lacoste S (2006)** Les plantes qui guérissent (ed) Leduc S. Paris,
- **Laouer H., Zerroug M. M., Sahli F., Chaker A. N. Valentini G., Ferretti G., Grande M.& Anaya J. (2003).**Composition and Antimicrobial activity of

Ammoidespusilla(Brot.)Breistr.essential oil. *Journal of Essential oil Research*,**15**: 135-138.

- **LOEUILLART. A. E. C.**, Principales de botanique médicale ; contenant l'abrégé de l'anatomie et de la physiologie végétales, l'énumération et la description des plantes médicamenteuses d'après la classification des végétaux, et la composition des préparations officinales que la pharmacie tire du règne végétal, Aimé Payen, 371p, 1821.
- **Lu Y., Yeap E. (2001)**: Antioxydant activities of polyphénols from sage (*salvia officinalis*), *journal food chemistry*,**75**: 197-202.
- **M.Touaibia et F.Z.Chaouch.,2017**, Propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de *Myrtusnivellei* Batt et Trab. obtenus *in situ* et *in vitro* ;Département de biologie et Agronomies ;Université Saad Dahleb ; Algérie .
- **MADI. A.**, Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (*Thym et Sauge*) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, mémoire de magister, à l'Université Mentouri Constantine, 2010,116p.
- **Mari M, Bertolini P, Pratella GC** (2003) Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. *J Appl Microbiol* 94:761–6
- **Miguel M. G. (2010)**. Antioxydant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*, **15**: 9252-9287.
- **Ohno T., Kila M., Yamaoka Y., Imamura S., Yamamoto T., Mitsufuji S., Kodama T., Kaschima K.**, Imanishi J., 2003. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*, *Helicobacter*, Vol. 8, 207-215
- **OKUMU.D.E**, Vitamines and mineral contents of Two Nigerian plants .*Int J.Mol.Adv.sc.*1:375-38,2005.
- **Oifa HOUTA .;Hanène CHOUAEB .; Mohamed NEFFATI ., Hassen AMRI.** Criblage chimique préliminaire des protéines et caroténoïdes présents dans un *CRITHMUM MARITIMUM* cultivé en Tunisie . *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 2012, *14*, 77-82
- **Oloyede O.I. (2005)**. Chemical Profile Of Unripe Pulp Of *Carica* on *Drosophila auraria*. *Experientia* 48:616–9
- **Perry NB, Anderson RE, Brennan NJ, et al** (1999) essential oils
- **Pessoa LM, Morais SM, Bevilaqua CML, Luciano JHS** (2002)
- **R.Safa,D-R.Mejda,C.Ikbal,L.Asma,H.Ibtissam,2013**, Composition Chimique Activité Antifongique et Activité Insecticide de *Salviaofficinalis*.Tunis.
- **RAFIA. R., BASHIRA. G., SEEMA. A., AZRAN. K., AKBAR. M.**, Phytochemical screening of *prunella vulgaris* L. an important medicinal plant of Kashmir, Département de biochimie, Regional Research in Unani Medicine Plant Tissue Culture Laboratory, Centre of Research for Development University of Kashmir, Srinagar-190006, J&K, India, Pak. J. Pharm. Sic., Vol.23, p399-402, 2010.
- **Rojas A., Hernandez L., Pereda-Miranda R., Mata R. (1992)** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacology*. **35** : 275-283.
- **ROQUE. M. C.**, Comprendre et traiter une douleur physique d'origine somatique, Mémoire de fin d'études, France, 2011, 59p.

- **RYBERG, M., MÖLLER, G., & ERIGSON, T. (1991).** Saliva composition and caries development in asthmatic patients treated with β 2-adrenoceptor agonists: a 4-year follow-up study. *European Journal of Oral Sciences*, 99(3), 212-218.
- **SCIMECA. D., TELOU. M.,** votre sante par les huiles essentielles c'est nature c'est ma santé, Alpen Editions S.A.M, 94p, 2005.
- **Shalaby, S., Horwitz, B.A.,** 2015. Plant Phenolic Compound And Oxidative Stress: Integrated Signals In Fungal–Plant Interactions. *Curr. Genet.* 61, 347–357
- **SOMMERARD. M.,** Le chemin des aromes, Médicis, 270p, 2006.
- **VERBOIS. S.,** Plantes et herbes aromatique saveurs et vertus, Fernande Lanore , 234p, 2003.
- **Wan, J., Wilcock, A., Coventry, M J., 1998,**The effect of essential oils of basil of the growth *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*l, *J. Appl. Microbiol.* 84: 152-158.
- **WILSON. M., GUYLAINE.G.,** Fleurs comestibles du jardin à la table, Fides, 371p, 2008.