



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biologie Animale et Végétale

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Spécialité : Biologie végétale.

Option : Génétique et Amélioration des plantes.

THEME

Evaluation *in vitro* de l'Action Antibactérienne d'Huile Essentielle de Sauge Officinale.L. (*Salvia officinalis*) de la région Nord-ouest de Tizi-Ouzou.



Réalisé par : M^{elle} Annane Assia - M^{elle} Boualili Mariama

Devant les membres du jury :

M ^{me} Taleb-Toudert K	Maître assistante classe A	UMMTO	Présidente
M ^{me} Benmansour N	Maitre de conférences classe A	UMMTO	Promotrice
M ^{me} Sahmoune F	Maitre assistante classe A	UMMTO	Examinatrice
M ^r Lhadj Mohand A/G	Maitre assistant classe A	UMMTO	Examineur

2013-2014



Remerciements

Nous remercions chaleureusement notre promotrice M^{me} BENMANSOUR N maitre de conférence classe A pour son aide précieuse et ses conseils qui ont été d'une grande importance tout au long de ce travail.

Nous tenons avant tout à exprimer notre profonde reconnaissance à M^{me} BOUGDAL-YAKOUB S., Professeur à la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'UMMTO Responsable de notre spécialité « Génétique et Amélioration des plantes, et responsable de notre formation.

Nous remercions aussi notre copromotrice Docteur Houchine D pour son aide durant notre période de la pratique.

Nous adressons nos sincères remerciements à M^{me} TALEB K, Maître assistante classe A à la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'UMMTO qui a bien voulu présider ce jury .

Nous remercions également Mr Lhaj Mohand A/G Maître assistant classe A à la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'UMMTO pour accepter d'examiner ce travail.

Nous remercions également M^{me} SAHMOUNE F. Maître assistante classe A à la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'UMMTO pour accepter d'examiner ce travail.

Il est comme même très agréable de remercier Mr AIT OUAZZOU A pour ses orientation et son soutien durant notre période de la pratique.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

- Mes très chers parents que dieu les protège
- La mémoire de mon oncle Si Ouali et que dieu le garde dans son vaste paradis
- Mes très chères sœurs
- Mes très chers frères
- Mon neveu (Salim) et à ma nièce (Kamilia)
- Tout(es) mes amis(es)
- Toutes les personnes qui me sont chères

Mariama



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

- Mes très chers parents que dieu les protège
- Mes très chères sœurs
- Mes très chers frères
- Tout(es) mes amis(es)
- Toutes les personnes qui me sont chères

Assia



Table des matières

Partie Bibliographique

Introduction

Chapitre I : *Les huiles essentielles*

I.1. Historique	3
I.2. Définition et caractérisation.....	3
I.3. Répartition et localisation des huiles essentielles dans le règne végétal.....	4
I.4. Rôle physiologique des huiles essentielles	4
I.5. Classification des huiles essentielles	5
I.6. Composition chimique des huiles essentielles.....	6
I.7. Les chémotypes des huiles essentielles.....	8
I.8. Les facteurs influençant la composition chimique	9
I.9. Propriétés des huiles essentielles	9
I.10. Procédés d'extraction des essences naturelles.....	10
I.11. Domaine d'utilisation des huiles essentielles	15
I.12. La toxicité des huiles essentielles	15
I.13. Conservation des huiles essentielles	16

Chapitre II : Généralités sur *Salvia officinalis*

II.1. Historique.....	17
II.2. Description morphologique et biochimique de la famille des <i>labiacées</i>	17
II.3. Botanique.....	19
II.4. Classification.....	21
II.5. Les différentes dénominations de la Sauge.....	22
II.6. Habitat.....	22
II.7. Culture de la Sauge.....	22
II.8. La composition chimique de la Sauge (<i>Salvia officinalis</i>).....	23
II.9. La composition chimique de différentes espèces de <i>Salvia</i>	25
II.10. Paramètre influençant la composition chimique	26
II.11. Le caryotype de la Sauge	26
II.12. Propriétés et emploi de l'espèce.....	29
II.13. Utilisation Thérapeutique	29
II.14. Les principaux composants de la Sauge	31
II.15. Autres domaine d'utilisation de l'espèce	32
II.16. Toxicité	32

Partie Pratique

Chapitre III : *Matériel et Méthodes*

III. Matériel et Méthodes	34
III.1. Matériel végétale.....	34
III.2. Méthode d'extraction.....	35
III.3. Mode opératoire	36
III.4. Tests biologiques.....	37
III.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur milieu solide	41

Chapitre IV : *Résultats et discussion*

IV.1. Résultats	43
IV.1. Etude phytochimique.....	43
IV.2. Le rendement des extractions.....	43
IV.3. Résultats de l'activité antimicrobienne	44
IV.4. Effet des extraits sur la croissance des bactéries.....	44
IV.5. Résultats de l'étude qualitative de l'activité antimicrobienne	44
IV.6. Résultats de l'étude quantitative de l'activité antimicrobienne	48
IV.7. Discussion	51
Conclusion	55
Références bibliographiques	56
Annexes	59

Liste des tableaux

Chapitre II : Généralités sur *Salvia officinalis*

Tableau I : La composition chimique de l'huile essentielle du *Salvia officinalis*23

Tableau II : les composés phénoliques de *Salvia officinalis*24

Tableau III : les valeurs nutritives de la Sauge.....31

Chapitre III : Matériel et méthodes

Tableau IV : Quelques caractéristiques des souches microbiennes testées.....37

Tableau V : Observations des différents caractères morphologiques selon les bactéries
utilisées39

Tableau VI : Représente l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne.....41

Chapitre IV : Résultats et discussion

Tableau VII: Différents rendements de la Sauge.....42

Tableau VIII : Zones d'inhibition en (mm) obtenues à partir de différentes souches
bactériennes testée.....43

Tableau IX : Les différentes concentrations minimales inhibitrices.....47

Liste des figures

Chapitre I : *Les huiles essentielles*

Figure 01 : Structure de la molécule d'isoprène.....	07
Figure 02 : Structure de quelques composés des huiles essentielles.....	07
Figure 03 : Dispositif de L'hydrodistillation	11
Figure 04 : Dispositif de l'hydrodiffusion.	11
Figure 05 : Dispositif de distillation à vapeur d'eau.....	12
Figure 06 : Dispositif d'extraction par expression à froid.....	12
Figure 07 : Dispositif de distillation par solvant	13
Figure 08 : Dispositif de l'enfleurage	14
Figure 09 : Dispositif de micro-ondes	14

Chapitre II : *Généralités sur Salvia officinalis*

Figure10 : Morphologie de <i>Salvia officinalis</i>	19
Figure11 : Morphologie de la tige de <i>Salvia officinalis</i>	20
Figure12 : Feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	20
Figure13 : Fleurs de <i>Salvia officinalis</i>	21
Figure 14 : Caryotype de l'espèce <i>Salvia wiedemannii</i>	27
Figure15 : Caryotype de l'espèce <i>Salvia Tchihatcheffii</i>	27
Figure16 : Ideogram of chromosome complement of <i>Salvia wiedemannii</i>	28
Figure17 : <i>Salvia Cadmica boiss</i>	28

Chapitre III : Matériel et méthodes

Figure 18 : Localisation géographique de la région d'étude	34
Figure 19 : Dispositif de l'hydrodistillation à l'échelle laboratoire type Clevenger.....	35
Figure 20 : Zone d'inhibition sur <i>staphylococcus aureus</i>	44
Figure 21 : Zone d'inhibition des huiles essentielles étudiées sur <i>streptococcus sp</i>	44
Figure 22 : Zone d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i>	45
Figure 23 : Zone d'inhibition de la souche <i>klebsiella pneumoneae</i>	45
Figure 24 : Zone d'inhibition des huiles essentielles étudiées sur <i>Proteus mirabilis</i>	45
Figure 25 : absence de l'activité de l'huile essentielle sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46
Figure 26 : Zone d'inhibition des huiles essentielles étudiées sur <i>Condida albicans</i>	46
Figure 27 : Détermination des CMI de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> sur les différentes souches testées.....	48

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de la normalisation

ATCC : American type culture collection

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CPG-SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

CMI : Concentration minimal inhibitrice

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DO : Densité optique

g : Gramme

h : Heure

HE : Huile essentielle

µl : Microlitre

MF : McFarland

mm : Millimètre

nm : Nanomètre

R : Rendement

SAB : Sabouraud

°C : Degré Celsius

% : Pourcentage

Introduction :

Pendant des siècles, l'Homme s'est toujours soigné par les plantes, de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes. La plupart des grands médecins du passé ont été des phytothérapeutes (**Goeb, 1999**).

Les vertus thérapeutiques des plantes ont été expérimentées depuis lors et leurs précieuses caractéristiques se sont transmises oralement de génération en génération ou consignés dans les vieux écrits. Les remèdes de bonne réputation ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne qui est venue marginaliser le recours aux techniques médicales naturelles.

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications des leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux (**Tchamdja, 1995**).

La popularité dont jouissent depuis longtemps les huiles essentielles et les plantes aromatiques en général reste liée à leurs propriétés médicinales en l'occurrence les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, bactéricides, antitoxiques, insecticides et insectifuges, tonifiantes, stimulantes, calmantes, etc. (**Nicolas, 1991 ; Mishara et Dubey et al., 1994**).

D'autre part, les huiles essentielles sont des substances très actives et par ailleurs elles peuvent être toxiques. Leur toxicité est liée à la présence de certains sites fonctionnels oxygénés (**Viaud, 1993**). Parmi leurs propriétés indésirables, on peut souligner entre autres : les propriétés vésicantes, nécrosantes, allergiques, hépatotoxiques, carcino-géniques, photosensibilisantes, neurotoxiques et néphrotoxiques (**Franchomme et Penoël, 1990**).

Leur utilisation devrait être basée sur les connaissances fiables et suffisantes apportées par la recherche scientifique bien menée. Il est donc indispensable de connaître les principes actifs des plantes afin d'en étudier l'efficacité, le mode d'action et évidemment les effets secondaires.

Selon **Hostettmann (1997)** connaître une plante ayant des vertus médicinales suppose pouvoir décrire sa morphologie et son anatomie, connaître son origine et son mode d'action, apprécier l'incidence de ceux-ci sur sa qualité, analyser sa composition chimique et les facteurs qui peuvent la faire varier, connaître la structure et les propriétés des principes actifs aussi bien que leur activité pharmacologique, savoir apprécier la qualité par des éléments objectifs et mettre en œuvre des méthodes pour la contrôler, et enfin d'appréhender tous les

problèmes liés à l'utilisation des plantes et des produits qui en sont issus: indication, contre - indication, effets secondaires, interactions médicamenteuses

La maîtrise de tous ces paramètres ne peut se faire qu'avec un concours de plusieurs disciplines, chacune apportant une contribution suivant sa spécialité.

Dans le but de contribuer à exploiter les plantes poussant en Algérie et réputées pour leurs vertus médicinales, nous avons fait l'extraction d'huile essentielle par hydrodistillation de *salvia officinalis*, cueillie dans la région de Tizi-Ouzou (Boudjima) et leur action sur l'activité antimicrobienne sur des souches bactériennes et fongique afin de comparer nos résultats à ceux de la littérature et confirmer les vertus de la *Sauge*.

Ce rapport est constitué de trois parties :

- La première partie passe en revue les généralités sur les huiles essentielles et la description botanique de l'espèce étudiée,
- La deuxième partie décrit le matériel et méthodes utilisées,
- La troisième partie est consacrée aux résultats, leur interprétation et discussion.

I.1. Historique :

Les traces d'utilisation de l'aromathérapie remontent à plus de 7000 ans (on trouve les premières traces chez les aborigènes d'Australie avec la fumigation), preuve en est un alambic en terre cuite retrouvé au Pakistan datant de cette époque. On trouve des inscriptions datant de 4000 ans en Mésopotamie et des écrits égyptiens datant de 3500 ans. Les Égyptiens obtenaient des huiles essentielles en pressant des plantes. Les Romains utilisaient également les huiles essentielles. Mais la grande épopée des huiles essentielles débute au 15^{ème} siècle jusqu'en 1935, date à laquelle elle fut reléguée en arrière-plan avec la découverte de la pénicilline etc...

De nos jours, l'aromathérapie retrouve ses lettres de noblesse grâce entre autres aux naturopathes et aux formations qui sont proposées aux médecins (**Anonyme¹, 2013**).

I.2. Définition et caractérisation :**I.2.1. Définition :**

On appelle huile essentielle (ou parfois « essence végétale ») le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante. Il est obtenu par extraction mécanique, entraînement à la vapeur d'eau ou distillation à sec.

Leur chimie est complexe mais, en général, elles sont un mélange de terpènes, d'alcools, d'aldéhydes, de cétones et d'esters (**Padrini et Lucheroni, 1997**).

I.2.2. Caractérisation :

Les huiles essentielles sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, très réfringentes, hydrophobes, incolores ou jaunâtres, inflammables s'altérant facilement à l'air en se résinifiant.

Elles sont liquides à la température ordinaire, elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité, suave, piquante au goût et ne laissent pas de taches durables sur le papier. La densité varie entre 0,8 et 1,2, la plupart sont plus légères que l'eau avec une densité de 0,8 à 0,98. Les eaux aussi parfumées sont mises dans le commerce sous le nom «d'eau aromatique».

Toutes les essences sont insolubles dans l'eau, mais sont solubles dans l'éther éthylique, le chloroforme, le sulfure de carbone, l'éther de pétrole, et dans l'alcool absolu. Leur solubilité dans l'alcool varie, elle fournit pour certaines essences un critère de leur puretés.

Elles constituent elles-mêmes d'excellents dissolvants, elles dissolvent les résines, les matières grasses, le soufre etc... (**Durvelle, 1930**).

I.3. Répartition et localisation des huiles essentielles dans le règne végétal :

Les Huiles essentielles sont synthétisées dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires recouvertes d'une cuticule. Les cellules endodermales se situent toujours à l'abri de ces substances, grâce à la présence d'un autre type de cellules appelées les cellules de gardes. La forme et le nombre des structures histologiques sécrétrices varient d'une famille botanique à l'autre et même d'une espèce à une autre. Néanmoins, plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce (**Karray et al., 2009**).

Les teneurs en huiles essentielles sont faibles (souvent inférieurs à 1%), sauf pour les boutons floraux de giroflier ou le taux peut atteindre 15% (**Ghestem et al., 2000**).

I.4. Rôle physiologique des huiles essentielles :

Beaucoup de plantes produisent des Huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Selon (**Bakkali .,2008**), les Huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets «utiles» pour la plante :

- Repousser ou au contraire attire les insectes pour favoriser la pollinisation ;
- Comme source énergétique ;
- Facilitant certaines réactions chimiques ;
- Permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques ;
- Réduction de la compétition des autres espèces de plantes par inhibition chimique de la germination des graines ;
- Par protection contre la flore microbienne infectieuse ;
- Action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables.

I.5. Classification des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction, ou les effets biologiques. On retient huit classes principales (les carbures sesquiterpéniques et terpéniques, les alcools, les esters et alcools, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les éthers et les peroxydes), avec les composants importants suivants :

- **Huiles essentielles (HE) riches en carbures terpéniques et sesquiterpéniques :**

- HE de térébenthine (*alpha-pinène, camphène*).
- HE de genévrier (*alpha-pinène, camphène, cadinène*).
- HE de citron (*limonène*).

- **Huiles essentielles riches en alcools :**

- HE de coriandre (*linalol*).
- HE de bois de rose (*linalol*).
- HE de rose (*géraniol*).

- **Huiles essentielles mélanges d'esters et d'alcools :**

- HE de lavande (*linalol, acétate de linalyle*).
- HE de menthe (*menthol, acétate de menthyle*).

- **Huiles essentielles riches en aldéhydes :**

- HE de cannelle (*aldéhyde cinnamique*).
- HE de citronnelle (*citral et citrannal*).
- HE d'eucalyptus citriodora (*citronellal*).

- **Huiles essentielles riches en cétones :**

- HE de carvi (*carvone*).
- HE de sauge (*thuyone*).
- HE de thuya (*thuyone*).
- HE de camphrier (*camphre*).

- **Huiles essentielles riches en phénols :**

- HE de thym (*thymol*).

- HE de sarriette (*carvacrol*) .,
- HE d'origan (*thymol et carvacrol*) .,
- HE de girofle (*eugénol*).

- **Huiles essentielles riches en éthers :**
 - HE d'anis vert, de badiane (*anéthol*) .,
 - HE de fenouil (*anéthol*) .,
 - HE d'eucalyptus globulus (*eucalyptol*) .,
 - HE de cajeput (*eucalyptol*) .,
 - HE de niaouli .

- **Huiles essentielles riches en peroxydes :**
 - HE de chénopode (*ascaridol*) .,
 - HE d'ail (*allicine*).

- **Huiles essentielles sulfurées :**
 - HE de crucifères et de liliacées.

La plupart des huiles essentielles sont constituées dans leur grande majorité d'un mélange assez complexe de monoterpènes, de sesquiterpènes, d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, d'oxydes, etc... Il y a quelques exceptions : huile essentielle de gaulthérie couchée composée à plus de 99,5 % de salicylate de méthyle (un ester aromatique) (**Anonyme², 2014**).

I.6. Composition chimique des huiles essentielles :

Sur le plan chimique, les Huiles essentielles sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les monoterpènes (myrcène, β -pinène, δ -terpinène) et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -humulène, β -bisabolène etc...) (**Croteau et al., 2000**).

I.6.1 .Les terpénoïdes :

Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires des végétaux, plus de 15.000 composés différents sont décrits dans la littérature. Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C₅H₈), communément appelée isoprène (**Fig.1**). Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpénoïdes sont classés en :

- ❖ Les monoterpénoïdes (C10)
- ❖ Les sesquiterpénoïdes (C15)
- ❖ Les diterpénoïdes (C20).

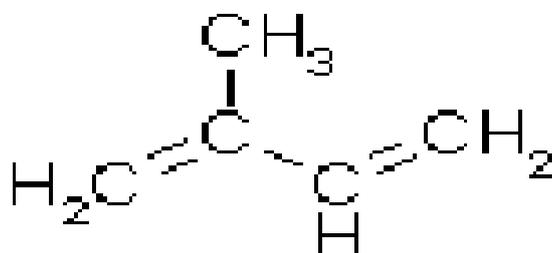


Fig. 1 : Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia *et al.*, 2007).

Dans la composition de la plupart des huiles essentielles les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie dont leur structure est illustrée au niveau de la fig.2. (Benchaar *et al.*, 2008).

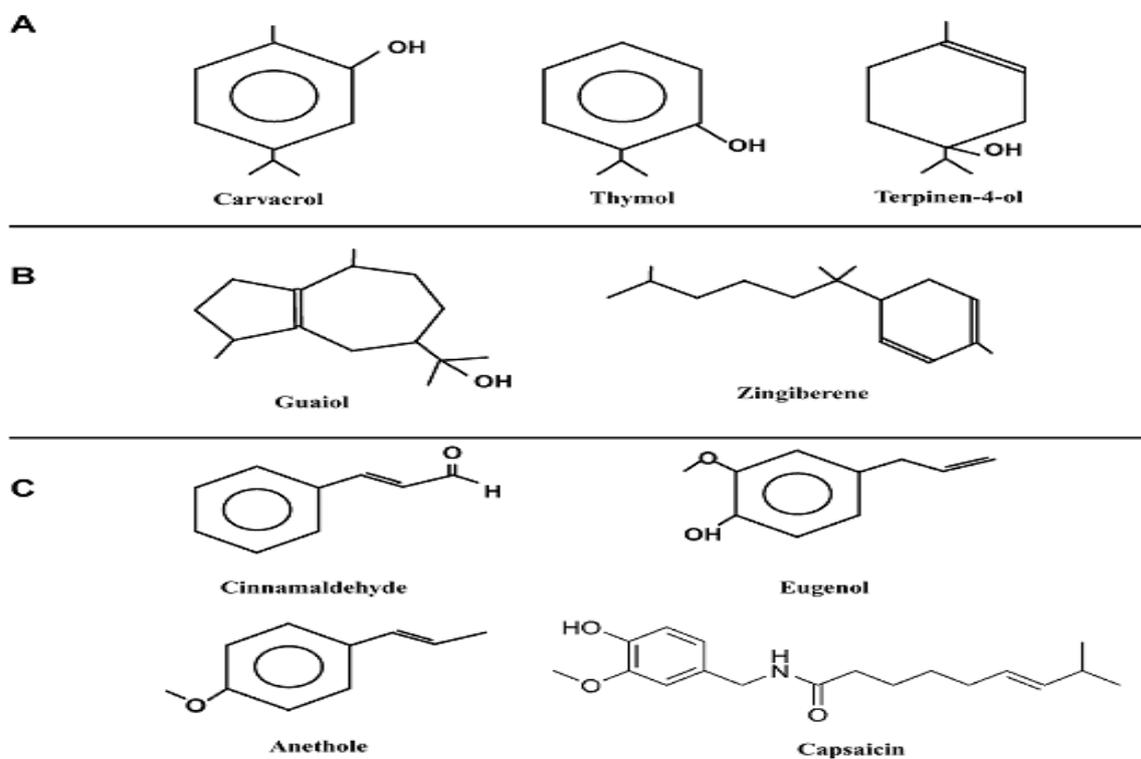


Fig. 2 : Structure de quelques composés des huiles essentielles (Calsamiglia *et al.*, 2007).

(A) : monoterpénoïdes (B) : sesquiterpénoïdes et (C) : phénylpropanoïdes.

❖ Les monoterpènes :

Sont volatiles, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des Huiles essentielles, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique : alcools (géraniol, menthol), aldéhydes (géranial, citronellal, sinensal), cétones (carvone, menthone, β -vétivone), et des esters (acétate de géranyle, acétate de linalyle, acétate de cédryle, acétate α -terpinyle).

❖ Les sesquiterpènes :

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple : β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α -bisabolol, farnesol (Bruneton, 1995).

I.6.2. Les composées aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane (C_6-H_3) sont beaucoup moins fréquentes que les terpénoïdes. Ce sont très souvent des allyles et propénylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'*Apiaceae* (anis, fenouil, persil, etc...). Les Huiles essentielles contiennent aussi des composés en (C_6-C_1) comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'authranilate de méthyle (Bruneton, 2002).

I.6.3. Composés d'origines diverses :

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation carbure, acide (C_3 à C_{10}), alcools, aldéhydes (octanal, décanal ...), esters, lactones, produits azotés ou soufrés (Bruneton, 2002).

I.7. Les chémotypes des huiles essentielles :

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle.

C'est l'élément qui permet de distinguer une huile essentielle extraite d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente.

Cette classification capitale permet de sélectionner les huiles essentielles, pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Nous connaissons par exemple sous la même

appellation botanique, deux grandes familles de thym, subdivisées elles-mêmes grâce à la définition de leurs chémotypes respectifs.

De nombreuses huiles comprennent plus d'un chémotype. La *Sauge sclarée* (*Salvia sclarea*) par exemple, contient 250 molécules différentes, dont 75 % issues de la famille des esters et 15 %, de celle des monoterpénols. Les molécules travaillent en synergie, ce qui explique la polyvalence des huiles essentielles et leur vaste spectre d'action.

Une fois que l'on connaît les propriétés des chémotypes ainsi que leur concentration dans une huile essentielle, on peut déterminer quels seront les effets de celle-ci, bienfaits ou dangereux (Anonyme³, 2012).

I.8. Les facteurs influençant la composition chimique :

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'Huile essentielle :

- La température ;
- Le taux d'humidité ;
- La durée d'ensoleillement ;
- La composition du sol ;
- La partie de la plante utilisée ;
- Le cycle végétatif de la plante ;
- La méthode utilisée pour l'extraction.

Sont d'autant de facteurs susceptibles d'exercer des modifications chimiques (Bruneton,1999).

I.9. Propriétés des huiles essentielles :

I.9.1. Propriétés physiques :

Les huiles essentielles constituent un ensemble homogène et leurs propriétés physiques sont :

- Ce sont des substances huileuses ;
- Elles sont généralement liquides à la température ambiante ;
- Elles sont très rarement colorées ;
- Leur densité est inférieure à celle de l'eau, exception faite pour les huiles essentielles de la cannelle, du girofle, et du sassafras ;
- Elles sont extrêmement volatiles, et perdent rapidement leurs propriétés ;

- Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, dans l'éther et dans la plupart des solvants organiques mais très peu soluble dans l'eau ;
- Leur indice de réfraction et leur pouvoir rotation sont généralement élevés, du fait de leur composition principale en molécules asymétriques ;
- Leur point d'ébullition se situe entre 60° et 240°C ;
- Les huiles essentielles sont stables à température ambiante si elles sont conservées de manière adéquate (à l'abri de l'oxydation et de la polymérisation provoquées par l'air, par la lumière et par les variations de température) (**Bruneton, 1995**).

I.9.2. Propriétés chimiques :

Les huiles essentielles s'oxydent à la lumière, et absorbent de grandes quantités d'oxygène de l'air, en se résinifiant, ce qui modifie leurs odeurs (**Padrini et Lucheroni, 2003**).

I.10. Procédé d'extraction des essences naturelles :

On peut extraire les huiles essentielles par différents procédés; certains d'entre eux ne sont toute fois plus employés de nos jours. Même si la méthode actuelle la plus courante est la distillation à la vapeur, des techniques plus efficace et plus économique sont continuellement mises au point.

I.10.1. L'hydrodistillation simple :

Le procédé consiste à immerger directement le matériel végétal (rameaux, feuilles...) découpés en morceaux dans un alambic rempli d'eau et porté à ébullition.

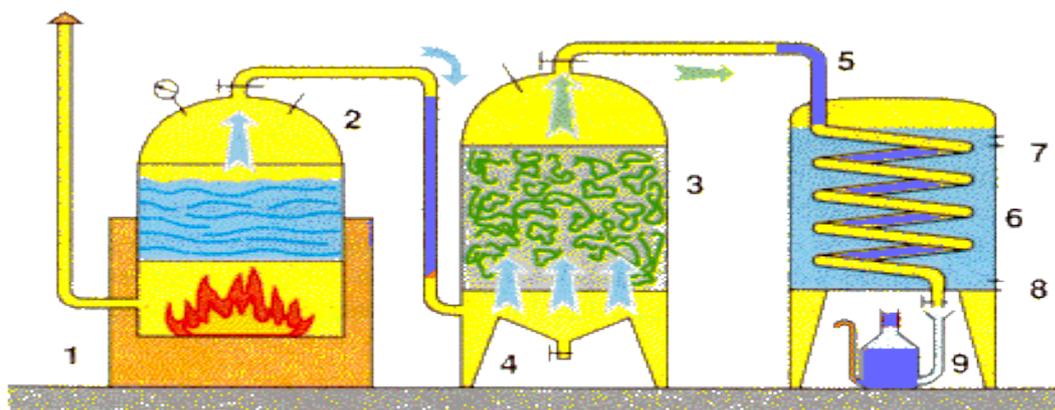
Les constituants volatils sont entraînés par la vapeur d'eau et sont condensés sur une surface froide. L'huile essentielle est séparée par différence de densité (**Bruneton, 1999**).



Fig. 3 : « Dispositif de L'hydrodistillation » (Anonyme⁴, 2012).

I.10.2. L'hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion est une forme de distillation à la vapeur. La différence tient à la façon dont la vapeur entre dans l'alambic. Pour l'hydrodiffusion, c'est par le haut que la vapeur est introduite pour passer à travers la matière végétale, plutôt que par le bas comme dans les systèmes de distillation habituels. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile se produit sous la grille retenant la matière végétale.



1: Foyer - 2: Chaudière - 3: Vase à fleurs - 4: Vidange de condensation - 5: Col de cygne - 6: Réfrigérant avec serpentín - 7: Sortie d'eau chaude - 8: Arrivée d'eau froide - 9: Essencier servant à la décantation de l'essence et de l'hydrolat

Fig. 4 : « Dispositif de l'hydrodiffusion » (Anonyme⁵, 2012).

I.10.3. Par distillation à vapeur d'eau :

C'est la méthode la plus largement utilisée et la mieux adaptée pour obtenir les huiles essentielles les plus pures.

Les plantes sont placées dans un alambic, puis chauffées avec de la vapeur d'eau. La chaleur intense fait exploser les petites poches qui contiennent les huiles, et celles-ci se répandent dans la vapeur d'eau. Elles sont ensuite canalisées dans un condensateur et réfrigérées pour se liquéfier à nouveau. A la sortie, un essencier ou «séparateur florentin» sépare l'huile qui flotte à la surface de l'eau de distillation, (ou hydrolat), à base de fleurs ou d'herbes aromatiques.

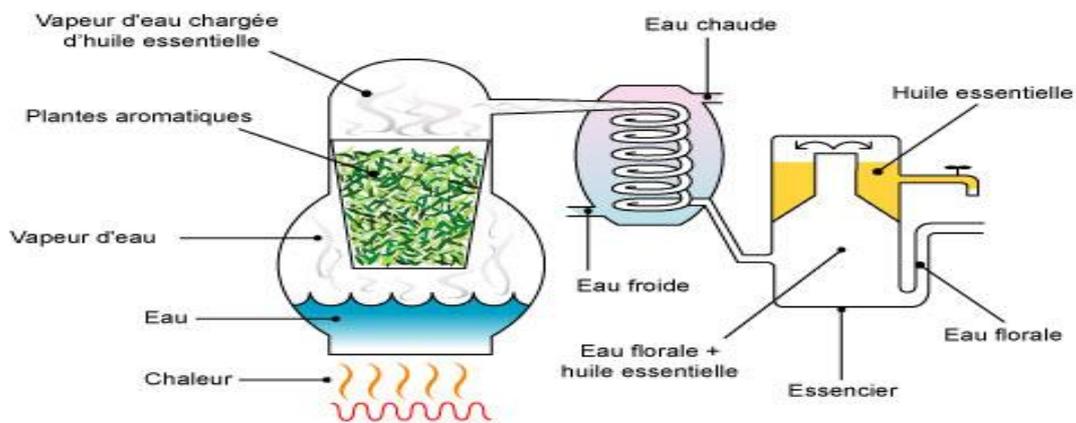


Fig. 5 : « Dispositif de distillation à vapeur d'eau » (Anonyme⁶, 2012).

I.10.4. Par pression à froid :

Ce procédé s'applique aux huiles citronnées et agrumes (bergamote, citron, mandarine, orange etc...). Dans ce cas, les écorces ou zestes, sont tout simplement pressés par une machine (quelquefois à la main) pour en recueillir les huiles.

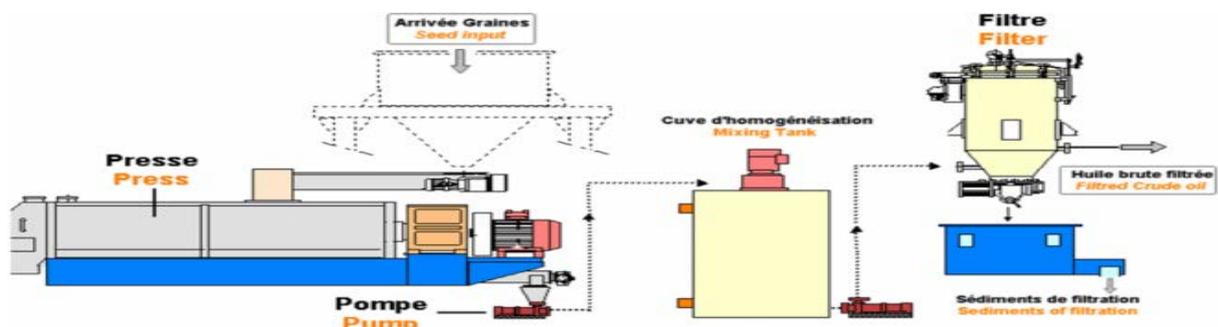


Fig. 6 : «Dispositif d'extraction par expression à froid » (Anonyme⁷, 2012).

I.10.5. Par extraction avec du solvant :

Cette méthode est utilisée pour obtenir des huiles florales extrêmement parfumées. Les plantes et le solvant sont placés dans un récipient et chauffés pour favoriser l'extraction des huiles par le solvant. La mixture ainsi obtenue est ensuite filtrée et devient ce que l'on appelle un «concret», qui est alors mélangé à de l'alcool, refroidi et filtré. Après évaporation de l'alcool, reste l'huile très parfumée, appelée «absolu». Des méthodes plus perfectionnées d'extraction par solvant ont permis de réduire la quantité d'alcool employé.

C'est le procédé employé par les industries mais qui doit être proscrit pour l'usage thérapeutique car le produit obtenu garde la trace des solvants.

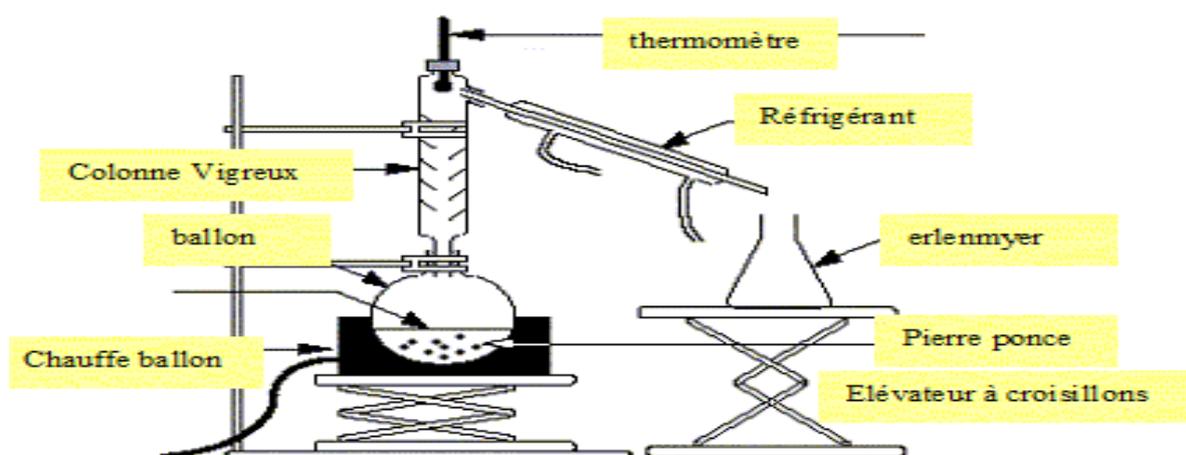


Fig. 7 : « Dispositif de distillation par solvant » (Anonyme⁸, 2012).

I.10.6. Par enfleurage :

Ce processus d'extraction, très sophistiqué, plus trop utilisé, est réservé aux huiles florales de très grande qualité. Les pétales fraîchement cueillis sont étalés sur de la graisse sur des châssis de verre et remplacés toutes les 24 heures, les huiles essentielles saturant progressivement la graisse. Le composé obtenu, appelé «pommade», est lavé avec de l'alcool qui, après évaporation, produit l'huile parfumée.



Fig. 8: « Dispositif de l'enfleurage » (Anonyme⁹, 2012).

I.10.7. Extraction assisté par micro-ondes :

Cette technique a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé de cette technique est basé sur l'absorption de l'énergie de la micro-onde par les composantes du matériel végétal et qui sont mesurées par une constante diélectrique. Cette absorption dépend aussi de la fréquence de l'onde et de la température du matériel végétal (Benayad, 2008).



Fig. 9 : « Dispositif de micro-ondes » (Anonyme¹⁰, 2012).

I.11. Domaine d'utilisation des huiles essentielles :

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que:

I.11.1. En pharmacie:

Les Huiles essentielles peuvent être utilisées comme :

- L'aromatisation des médicaments destinées à la voie orale (**Ziming et al., 2005**).
- Pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille) (**Paris et Hurabielle, 1981**).

I.11.2. Dans l'industrie:

I.11.2.1. Parfumerie et cosmétologie :

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines Huile essentielle constituent des bases des parfums.

- Exemples: Rose, Jasmine, Vétiver, Ylang-ylang, etc... (**Paris et Hurabielle, 1981**).

I.11.2.2. Alimentation :

Les Huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie) (**Ziming et al., 2005**).

Tous les segments alimentaires sont consommateurs des huiles essentielles : alcools, boissons non alcoolisées, confiseries produits laitiers, produits carnés, sauces, soupe, snacks, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale (**Bruneton, 2002**).

I.12. La toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie.

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles

riches en cinnamaldéhyde (**Smith et al., 2000**) ou phototoxique (huiles de *citrus* contenant des Furocoumarines (**Naganuma et al., 1985**)).

D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme la thuyone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (**Franchomme et al., 1990**).

I.13. Conservation des huiles essentielles :

Il est recommandé de stocker les huiles essentielles dans des flacons en verre ambre ou foncé, de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air (pas d'ouverture prolongée des flacons). Dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années.

Les flacons doivent être stockés en position verticale (en position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile essentielle) (**Anonyme¹¹, 2013**).

II.1. Historique :

Originnaire des pourtours de la méditerranée, la Sauge est intimement liée à la région judéo-chrétienne. Dans la bible, c'est en effet cette plante qui sauva marie et son enfant jésus des bourreaux d'Hérode qui sacrifiaient les nouveau nés (**Rober et Rombi ,2007**).

La Sauge est une panacée. Son nom est déjà une sorte de diplôme d'efficacité puisque *Salvia* vient du verbe latin *salvare* qui signifie « **sauver** » ; mais elle a aussi à son actif le plus beau palmarès de citations à l'ordre de la santé qu'on puisse imaginer.

Elle est connue à l'époque des pharaons, la Sauge a traversé les siècles et les continents aussi bien comme aliment que médicament.

Pour les romains, elle est « **l'herbe sacrée** » qui se récolte avec un cérémonial spécial, sans l'intervention d'outils de fer (or, il est prouvé maintenant que les sels de fer sont une substance incompatible avec la Sauge).

La Sauge est utilisée depuis longtemps, pour ses vertus médicinales. Chez les grecs, elle était déjà connue, pour ses propriétés digestives et anti-infectieuses.

Dans les traditions amérindiennes, lors de la cérémonie de la fumée, on la brûle pour chasser les mauvais esprits, les mauvais sentiments. Elle est enfin indispensable au folklore provençal, ou la tradition veut qu'elle soit récoltée au petit matin de la Saint-Jean.

La Sauge reconnue par les chinois, ces derniers n'hésitaient pas à échanger leurs feuilles de thé les plus précieuses contre des feuilles de Sauge.

Au XVI^{ème} siècle, le botaniste Jacob Tabernaë-Montanus raconte que les femmes Egyptiennes avaient l'habitude de boire du jus de *Sauge* pour accroître leur fertilité.

Au, XVIII^{ème} siècle, on roulait les feuilles de Sauge comme des cigarettes. Tous les asthmatiques se mettaient à fumer de la Sauge dès l'apparition du premier pollen printanier. La plante était associée avec l'immortalité et la longévité. Certains groupes d'amérindiens mélangeaient la Sauge avec la graisse d'ours pour guérir les problèmes de peau. Elle à également été utilisée pour traiter les verrues (**Leclerc, 1983**).

II.2. Description morphologique et biochimique de la famille des *Labiacées* (*Lamiacées*) :

Les *Labiacées* forment une grande famille à distribution cosmopolite de plantes d'environ 200 genres. Un certain nombre d'entre elles composent le paysage méditerranéen : le basilic, les lavandes, les menthes, l'origan, le romarin, les thyms, les sauges, etc... (**Frohne et al., 2009**).

Les *Labiées* sont rares, dans les régions arctiques et en haute montagne. C'est une famille exceptionnellement homogène : une *lamiacée* est très facile à reconnaître (**Guignard et Dupont, 2004**).

Ce sont des plantes herbacées, buissons, ou arbre, quelque peu ligneux annuelles ou vivaces disposant de nombreux poils sécréteurs (**Frohne et al., 2009**).

Les feuilles sont toujours simples et opposées. Elles sont chez les espèces vivantes dans les endroits secs, coriaces et présentent des adaptations leur permettant de réduire leur transpirations (feuilles velues à limbe enroulé par-dessous, stomates enfoncés (**Guignard et Dupont, 2004 ; Spichiger et al., 2004**). La formule Florale est : **5(S) + 5(P) + 4(E) + 2C**

Le calice régulier à bilabié, persistant et parfois accrescent autour du fruit, La corolle est nettement bilabiée, d'où le nom donné par les premiers botanistes : une lèvre est formée de deux pétales dorsales, l'autre de trois pétales ventrales. L'androcée à quatre étamines latérales ventrales qui sont généralement les plus grandes. Le fruit est un tétrakène. (**Botineau, 2010**).

Chez quelques rares lamiacées tropicales une cinquième étamine dorsale et quelque genre dont les Sauges, Romarins, n'ont plus que deux étamines. Le gynécée, disposé sur un disque nectarifère toujours présent, deux carpelles soudées, avec fausse cloison et style gynobasique (mais les stigmates sont séparés et les ovules sont disposés différemment) (**Guignard et Dupont, 2004**).

Cette famille est très homogène, car du point de vue anatomique, il est noté la présence de paquets de collenchyme aux 4 angles de la tige. Les *labiées* sont très riches en poils tecteurs et sécréteurs.

Beaucoup d'espèces présentent des signes d'adaptation à la sécheresse, nous pouvons citer les feuilles velues, le limbe replié en dessous, l'hypoderme collenchymateux, les stomates enfoncés (ils comportent donc cette famille deux cellules annexes perpendiculaires à la grande dimension de l'ostiole).

Du point de vue biochimique, les *labiées* sont pour la plupart des plantes aromatiques à huiles essentielles renfermant des constituants variés et c'est à ce titre surtout qu'elles sont médicinales. Ces constituants sont :

- Les phénols : tels que le thymol et le carvacrol (thym, origan) ;
- Les alcools : terpéniques, leurs esters et leur dérivés : linalol (lavandes) ; menthol (menthe), bornéol (romarin), cinéol (lavande aspic, romarin) ;
- Des triterpènes : acide ursolique, oléanolique ;

- Des polyphénol : des flavonoïdes, des coumarines, l'acide rosmarinique.

Près d'une centaine d'espèces de *labiées* ont été inscrites dans diverses pharmacopées (**Paris et Moïse, 1971**).

II.3. Botanique :

La Sauge fait partie de la famille des *labiacées*. C'est un sous arbrisseau rameux, buissonnant et persistant, formant une touffe ligneuse pouvant atteindre jusqu'à 80cm de haut, très ramifiée, xérophyte, très aromatique.



Fig. 10 : Morphologie de *Salvia officinalis* (Boudjima,2014)

II.3.1. La tige :

Elle fait de 20 à 30cm de long, de couleur gris verdâtre, finement pubescente à section quadrangulaire, émet de nombreux rameaux dressés, présentant des nœuds saillants sur lesquelles sont insérés les feuilles (**Teuscher et al ., 2005**).



Fig. 11 : Morphologie de la tige de *Salvia officinalis* (Boudjima,2014)

II.3.2. La feuille :

La forme et la taille des feuilles sont fonction de leur position sur la tige. Pétiolées, lancéolées et assez grandes (6-8×3-4cm), elles sont sessiles, étroite, aiguës et plus petites lorsqu'elles sont au sommet. La face supérieure est gris-vert et finement granuleuse, la face inférieure est blanche et pubescente (Rombi et Robert, 2007).

Elles sont persistantes, elles tombent si l'hiver est très rigoureux (Anonyme¹², 2007).

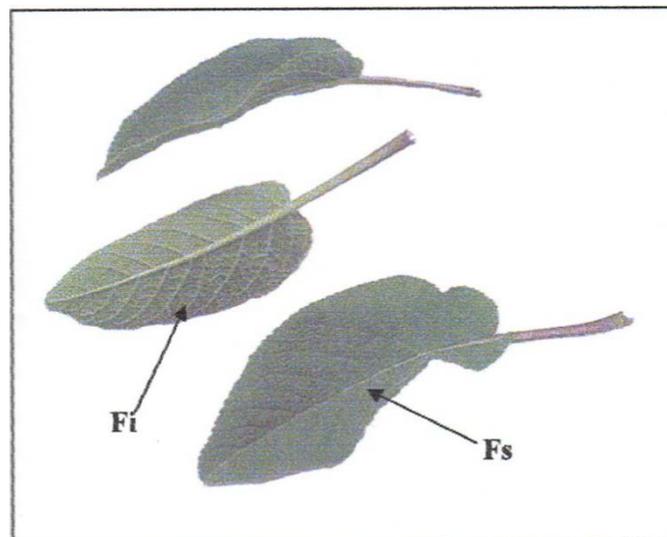


Fig. 12 : Feuilles de *Salvia officinalis* (Teuscher et al., 2005).

- Fi : Face inférieure
- Fs : Face supérieure

II.3.3. La fleur :

Elle est d'environ 2cm de long, à corolle bien violet nettement bilabée à pédoncules courts, tubuleuse groupées par trois, en faux verticilles (**Bruneton, 1993**).

Elles sont zygomorphes, leur calice est pubescent, persistant et ponctue de glandes sécrétrices, en forme de clochettes ovales de 1 à 14cm de long. Il comprend 5 sépales soudées à la base, leur corolle bilabée comprend 5 pétales soudées, de couleur violet clair, les bractées sont ovales (**Teuscher et al ., 2005**).



Fig. 13 : Fleurs de *Salvia officinalis*. (Boudjima,2014)

II.3.4. Le fruit :

Est un tetrakéne lisse persistant au fond du calice, de couleur brun foncé à noir, chaque akéne de forme globuleuse, à 2 mm de diamètre (**Brunton ,1993**).

La graine est exalbaminée (**Botinreau, 2010**). Selon **Beloued (2001)**, la floraison s'étend entre mars et mai et selon **Cabaret (1986)** elle s'étendrait de mai à juillet, avril pour les climats les plus doux, cependant ne fleurit pas sous les climats trop frais (**Anonyme¹³, 2007**).

II.4. La classification :

- La classification classique :

Règne	: Végétal
Embranchement	: Spermaphytes
Sous- embranchement	: Angiospermes
Classe	: Magnoliataea (dicotylédones)

Sous classe	: Asteridae (Gamopétales)
Ordre	: Lamiales
Familles	: Labiaceae.
Genre	: <i>Salvia</i>
Espèce	: <i>Salvia officinalis</i> .L.

II.5. Les différentes dénominations de Sauge :

Synonyme : Herbe sacrée, thé d'Europe, thé de Grèce, thé de France, thé de Provence, grande Sauge, Sauge franche.

Nom vernaculaire arabe : Souaq ennebi , Houdbiques es sedr , Salma ; kheyat djouhat .

Nom targui ou berbère : Tazzourt , Agourim, Imeksaouen

Nom allemand : Salbei,Garten-salbei ,Edl-salbei.

Nom anglais : Common sage, Garden sage (**Cabaret, 1986 ; Beloued , 2001**).

II.6. Habitat :

C'est une plante très répandue dans le bassin méditerranéen (sols calcaires) spontanée dans les lieux arides , elle pousse sur les terrains les plus pauvres , même s'ils sont pierreux , car elle est peu exigeante et très généreuse , elle aime l'ensoleillement , elle se cultive dans n'importe quel potager comme plante aromatique et culinaire (**Cretti , 1981**) .

La Sauge est cultivée dans tout le bassin méditerranéen, de l'Espagne à la Turquie et en Afrique du nord (**Rombi et Robent, 2007**).

Elle est cultivée dans les parcs et jardins comme plante ornementale (**Ozkan, 2008**).

II.7. Culture de la Sauge :

II. 7.1. Méthodes de culture de la Sauge :

La Sauge se multiplie par semis, division des touffes ou bouturage. Les plantations se font au mois d'avril. Si vous faites des semis, semez en surface et laissez les graines prendre de la lumière pendant un ou deux jours avant de les recouvrir de terre.

II.7.2. La récolte :

Vous pouvez récolter les feuilles toute l'année au fur et à mesure de vos besoins mais la meilleure période se situe juste avant la floraison.au printemps.

II.7.3. Conservation de la Sauge :

Cette plante se conserve fraîche quelques jours dans le bac à légumes du réfrigérateur. Elle supporte très bien la congélation. Pour un séchage, cueillez les branches et faites les sécher tête en bas dans un endroit sec et aéré (**Patricia, 2014**)

II.7.4. Exigence édaphique :

La Sauge préfère un terrain calcaire, elle partage cette tendance avec l'anis vert, le cumin, le persil, le mélilot (**Anonyme¹⁴, 2014**)

II.8. La composition chimique de *Salvia officinalis* :

Selon **Bruneton (1999)**, la Sauge officinale contient environ (8 - 25 ml/kg) d'huile essentielle, qui est caractérisée par la présence de camphre, de cinéole et de cétones monoterpéniques bicycliques : **les thyones** (α -thyone et β -thyone). Ces derniers peuvent présenter jusqu'à 60% de l'huile essentielle, l' α -thuyone étant presque toujours largement prépondérante. La composition varie en fonction de nombreux facteurs. A titre indicatif, le profil défini par la norme NF ISO 9909 [1999] pour l'HE (huile essentielle) de Sauge officinale est le suivant :

Tableau I: La composition chimique de l'huile essentielle du *Salvia officinalis* (Bruneton, 1999).

Le composé de l'HE	La teneur en (%)
α - Thuyone	18 - 43
β -Thuyone	3 - 8,5
Camphre	4,5 - 24,5
Cinéole	5,5 - 13
Humulène	0 - 12
α -pinène	1 - 6,5
Camphène	1,5 - 7
Limonène	0,5 - 3
Linalol libre et estérifié	1 au maximum
Acétate de bornyle	2,5 au maximum

Selon **Rombi et Robert. (2007)**, la feuille est riche (1-3%) en flavonoïdes : 7-glucosyl-apigénol et 7-glucosyl-lutéolol, 5-méthoxy salvigénine et autres flavones, la plus part méthoxylées en 6 ; des dérivés de l'acide hydroxycinnamique et des acides-phénols comme l'acide rosmarinique.

La plante renferme de nombreux triterpènes : surtout des dérivés carboxyliques de la série de l'oléanane notamment de l'acide ursolique ; des phénols diterpéniques comme l'acide carnosolique qui se transforme au séchage en carnosol, le rosmanol, le galdosol, le sufficinolide.

Sa teneur en huile essentielle varie de 0,8 à 2,5 %, est caractérisée par la présence des cétones monoterpéniques bicycliques, les α et β -thuyones (35-60%, l' α -thuyone étant rare exception, nettement prédominante).

L'huile essentielle renferme également, comme composants majoritaire du camphre (10-40% parfois moins), du cinéole, du bornéol.

Parmi les autres constituants identifiés, **Chromatographie** en phase gazeuse **CPG** et Le couplage chromatographe en phase gazeuse - spectromètre de masse (**CPG/SM**) et assez constamment retrouvés on note une dizaine de carbures mono- et sesquiterpéniques : α - et β -pinène, camphène, myrcène, limonène, α - et β -caryophyllène etc, des proportions de ces différents constituants peuvent varier en fonction de nombreux critères.

Les composés phénoliques chez *Salvia officinalis* sont tout aussi efficaces car ils renferment une proportion assez importante d'antioxydants dont les constituants sont mentionnés dans le tableau II.

Tableau II : les composés phénoliques de *Salvia officinalis* (Madi, 2010).

Polyphénols
<u>Acides phénols</u>
❖ 4-hydroxybenzoïque acide
❖ 3-méthoxy-4-hydroxybenzoïque acide (acide valinique)
❖ Acide rosmarinique
❖ Acide salvianolique
❖ Cis-p-caumarique acide 4-(2-apiosyl) glucoside
❖ Trans-P-caumarique acide 4-(2-apiosyl) glucoside
❖ 6-feruloyl - α -glucose

- ❖ 6-feruloyl - β -glucose
- ❖ 6-caffeoyl-1-fructisyl - α -glucoside
- ❖ 1-caffeoyl-6-apiosyl glucoside
- ❖ 1-p-Hydroxybenzoyl-6-apiosylglucoside

Les flavonoides

Flavones

- ❖ 5, 7,40-Trihydroxyflavone (apigenine)
- ❖ 7-Methyl ether (genkwanine)
- ❖ 7,40-Dinethyl ether (acacetine)
- ❖ 5, 7,3',4'-Tétrahydroxyflavone (Luteoline)

Flavonols

- ❖ Quercétine

Fluonones

- ❖ 5,7,30-Trihydroxyl-40-methoxyflavonane (hespereture)

Flavones glycosides

- ❖ Apigenine-7-glucoside (cosnosine)
- ❖ Luteoline -7-glucoside (cinaroside)
- ❖ 7-glucuronide

II.9. La composition chimique des différentes espèces de *Salvia* :

La Saugé sclarée, *Salvia sclarea* L., renferme surtout du linalol et l'acétate de linalyle. En revanche, l'essence concrète est surtout riche en sclaréol qui est un diterpène (**Botineau ,2000**).

La Saugé d'Espagne, *Salvia lavandulifolia* Vahl, élabore surtout du camphre et du cinéole, et pratiquement pas de Thyones. Mais certaines variétés élaboreraient de l'acétate de sabinyle qui est toxique.

La Saugé des prés, *Salvia pratensis* L., hôte habituel des pelouses ou encore de pairies de fauche n'a quand à elle aucune application médicinale (**Botineau , 2010**).

Salvia pratensis, quasi dépourvue d'huile essentielle (**Frohne et al ., 2009**).

II.10. Paramètre influençant la composition chimique :

Selon **Teuscher *et al.* (2005)**, la composition chimique d'une plante est avant tout déterminée par sa biosynthèse et son profil génétique. Ainsi, pour une même espèce, de nombreux chémotypes aux profils chimiques différents peuvent exister.

La composition chimique d'une plante varie selon :

- ❖ **La nature de ses organes :** car la biosynthèse y est nettement différencié. Ainsi, l'huile essentielle obtenue à partir de l'écorce de cannellier de Ceylan contient majoritairement de l'aldéhyde cinnamique, alors que celle obtenue à partir de la feuille est plutôt riche en eugénol. L'huile essentielle obtenue à partir de l'écorce de ce même cannellier est riche en camphre.
- ❖ **Les conditions de croissance de la plante :** ces conditions interviennent également dans sa composition chimique. Ainsi le teneur en carvone de l'huile essentielle de carvi augmente au détriment du limonène, tout au long de la maturation du fruit.
- ❖ **Les conditions environnementales :** le profil chimique peut également être modifié par la qualité et la quantité de la lumière, la température, la pluviométrie, les facteurs édaphiques, et le stress.
- ❖ **Les conditions de culture :** elles influencent également les profils qualitatifs et quantitatifs (dates du semis et de la récolte, traitements phytosanitaires, emploi d'engrais, état de maturation et des conditions atmosphériques lors de la récolte, techniques de récolte, condition de coupe, traitement après récolte, mode de conditionnement, durée et conditions de stockage).

II.11. Le caryotype de la Sauge :

❖ Le caryotype de *Salvia L.* :

Le genre *Salvia L.* appartient à la famille des lamiacées et est représentée par 88 taxons, dont 43 sont endémiques en Turquie. Le genre *Salvia L.* est bien connu pour son horticulture ainsi que pour une certaine importance commerciale.

Les études sur les caryotypes de ce genre ne pouvaient pas mener assez parce que ses chromosomes sont de trop petites tailles. De nombreux chercheurs ont mentionné que le pourcentage de germination des graines diminuer en raison du type de chromosome B dans les espèces *Salvia*).

Une étude était faite pour déterminer le nombre et les propriétés morphologiques des chromosomes dans les populations turques de *Salvia wiedemannii* Boiss et *Salvia tchihatcheffii*, les deux types sont endémiques. Le nombre de chromosomes de l'espèce *Salvia wiedemannii* est égal à $2n = 14$ (Fig.14) (Özkan ,2006)

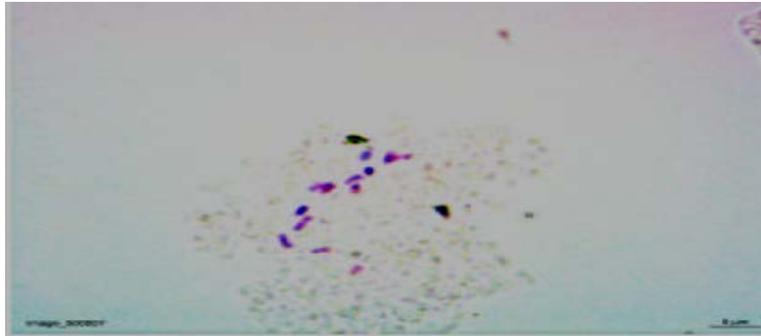


Fig. 14 : Caryotype de l'espèce *Salvia wiedemannii* (Özkan , 2006).

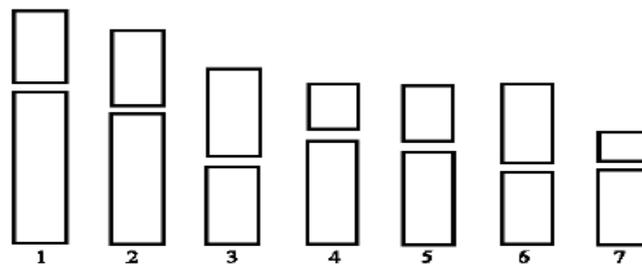


Fig. 1: Ideogram of chromosome complement of *S. wiedemannii*

Le caryotype de cette espèce est composé de 4 paires des submétacentriques (sm). Les chromosomes 1, 2, 4, 7. Les chromosomes 3, 6 sont métacentriques (M), le 5^{ème} chromosome est situé au niveau de région médiane (m). Les chromosomes varient de 1,57 à 3,151 μ m. Le bras le plus court est de 0,521 μ m (voir idiogramme fig.1).

Le nombre de chromosomes de l'espèce *Salvia Tchihatcheffii* est $2n = 18$ (Fig.15).

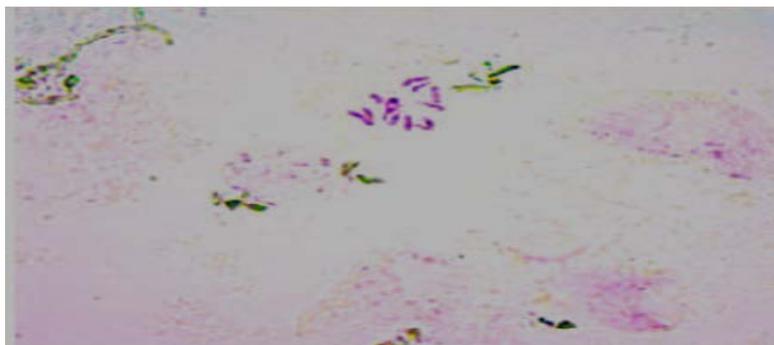


Fig. 15 : Caryotype de l'espèce *Salvia Tchihatcheffii* (Özkan , 2006).

le caryotype de cette espèce est composé de 3 paires métacentriques (M), 2 paires medianes (m), une région (m), 2 paires de région subterminale (st) et 2 paires de région submédiane (sm). 2, les chromosomes 6 et 9 sont le point médian (M), 4^{ème}, 8^{ème}, les chromosomes sont région médiane (m), les 3^{ème} et 7^{ème} chromosomes sont région submédiane (sm), les 1ers et 5èmes chromosomes sont région subterminale (st). Chromosomes varient de 1,31 à 2,90 μm (Fig.16)

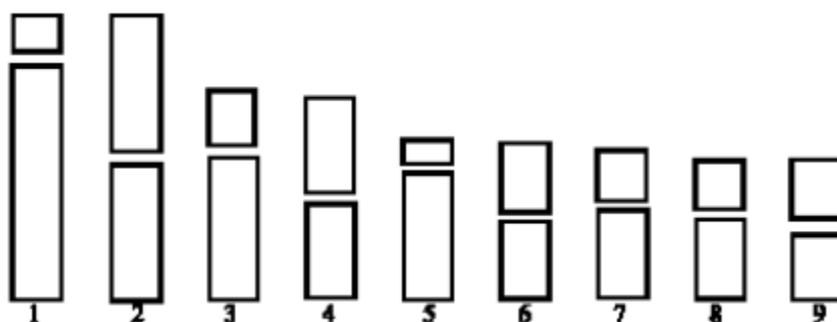


Fig. 16: Ideogram of chromosome complement of *Salvia wiedemannii* (Özkan, 2006).

❖ Le caryotype de *Salvia cadmica* :

Des études sur le caryotype de ce genre « *Salvia* » n'ont pas pu être réalisées à cause de la taille des chromosomes qui étaient trop petits.

Le nombre de chromosomes de cette espèce est $2n = 14$ (Fig.17). Le caryotype de cette espèce étaient composés de 2 paires de subterminale (st), 2 paire de médiane (m), et trois paires de submédiane (sm) chromosome. Chromosomes 3^{ème} et 5^{ème} étaient subterminale (st), 4^{ème} et 6^{ème} chromosomes étaient median (m), 1^{er}, les chromosomes 2^{ème} et 5^{ème} étaient submédiane (st).

Tailles chromosomique variaient de 2,52 - 1,37 μm . le bras le plus long était 1,74 μm et le plus court bras était 0,28 μm (Özkan *et al.*, 2008).

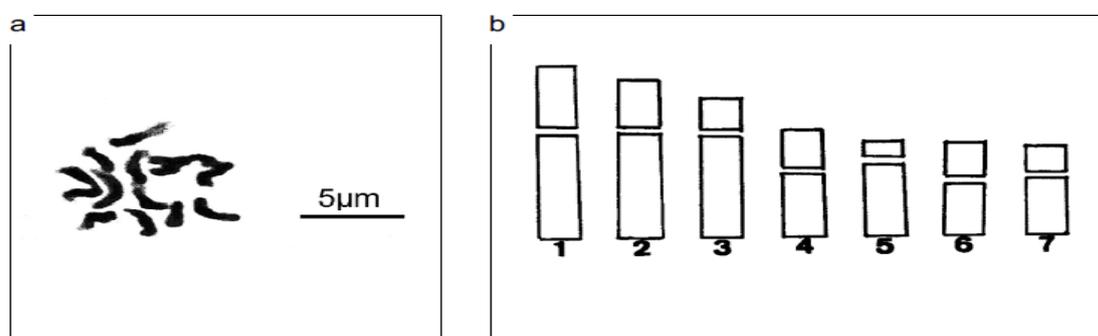


Fig. 17: *Salvia cadmica* Boiss : a: mitotic metaphase chromosomes ; b: Ideogram of chromosomes complement (Özkan *et al.*, 2008).

II.12. Propriétés et emploi de l'espèce :

Selon un dicton provençal : « qui a de la Sauge dans son Jardin n'a pas besoin de médecin ». Cette plante possède des propriétés stimulantes, Toniques, Digestives, Fébrifuges et Vulnérables, c'est donc un remède à haut degré.

De nos jours elle reste une plante primordiale de la pharmacopée et entre dans de nombreuses préparations de phytothérapie (**Robert et Rombi, 2007**).

II.13. Utilisation Thérapeutique

La Sauge est l'une des fines herbes qui ne sont habituellement pas consommées en grande quantité. Utilisée comme assaisonnements, elles ne peuvent donc pas procurer les bienfaits santé qui leur est attribués.

La majorité des études sur les fines herbes ont été réalisées chez l'animal à partir d'extrait de la plante. L'extrait est utilisé afin d'être en mesure d'isoler et de connaître les principes actifs, ainsi que pour comprendre les mécanismes d'action. Chez l'humain, il est difficile d'évaluer les effets santé de la consommation de fines herbes puisque les quantités consommées sont généralement faibles.

II.13.1. Des Antioxydants :

Ce sont des composés qui réduisent les dommages causés par les radicaux libres dans le corps. Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans l'apparition de maladies cardiovasculaires et de certains cancers et maladies liées au vieillissement. Certains chercheurs ont évalué la capacité antioxydante des fines herbes et tous s'entendent pour dire que les fines herbes fraîches démontrent une capacité antioxydante non négligeable. Parfois même plus élevée que celle de certains fruits et légumes (**Campanellal et al., 2003 ; Zheg et Wang, 2001**). Cela démontre qu'effectivement, l'ajout de fines herbes de façon régulière dans l'alimentation contribue à l'apport en antioxydant.

L'étude menée par **Campanellal et al. (2003)**, a montré que la capacité antioxydante de la sauge a été estimée comme étant la plus élevée parmi six fines herbes, l'acide carnosique et l'acide rosnarinique seraient les composés antioxydants retrouvés dans la Sauge.

Une étude menée par **Lina et al. (2005)**, effectuée chez des rongeurs a démontré que la consommation d'infusions de sauge séchée pendant deux semaines par ces animaux augmentait de façon significative l'activité d'une enzyme antioxydante produite par le foie.

II.13.2. Action antisudorifique :

Au cours des années 1930, ils ont menée une série d'études démontrant l'action antisudorifique de la Sauge.

Une étude allemande, menée en 1989 auprès de 80 personnes souffrant de transpiration excessive, indique qu'un extrait aqueux (440 mg/jour) était aussi efficace qu'une infusion (4,5 g/jour) pour atténuer la sudation.

D'après Cadéac et Meunier, l'essence de la plante agirait sur le bulbe et entrainerait la paralysie de l'appareil nerveux périphérique des glandes sudoripares (**Leclerc, 1983**).

II.13.3. Action anti-inflammatoire :

La commission E du ministère de la santé allemande reconnaît l'usage de la Sauge pour soulager les troubles digestifs fonctionnels et pour traiter l'inflammation des muqueuses de nez et de la gorge.

L'ESCOP (Coordination Scientifique Européenne en Phytothérapie) lui reconnaît en plus des indications spécifiques pour les inflammations du pharynx, des gencives et des muqueuses de la bouche.

En Allemagne, l'efficacité de l'infusion de sauge est aussi reconnue pour traiter les inflammations causées par le port de prothèses dentaires et comme traitement de soutien en cas d'inflammation des muqueuses gastro-intestinales.

Cette action pouvait être liée à la présence d'acide phénolique et l'acide rosmarinique (**Robert et Rombi, 2007**).

Elle a aussi des vertus bactéricides liées à la présence d'un acide diterpénique, la salvine et de son ester monométhyle (**Bezanger et al ., 1980**).

II.13.4. Maladie d'Alzheimer :

Une étude d'intervention a démontré que les extraits de sauge administrés pendant quatre mois à des personnes âgées atteintes de la maladie d'Alzheimer améliorait les fonctions cognitives et diminuait l'agitation, comparativement aux personnes ayant reçu le placebo (**Akhondzadeh et al ., 2003**).

II.13.5. Effets sur les lipides sanguins :

La consommation d'un extrait de feuille de Sauge diminuerait les triglycérides chez l'animal. Les triglycérides sont des lipides en circulation dans le sang et qui peuvent devenir

un facteur prédisposant aux maladies cardiovasculaires lorsqu'ils sont présents en grande quantité. Les auteurs de ces études ont identifié plusieurs composés actifs dans la sauge, mais seul l'acide carnosique a démontré un effet hypotriglycéridémiant (**Ninomiya et al., 2004**).

II.13.6. Effets sur la glycémie :

Dans le cadre d'une étude exploratoire effectuée chez l'animal, l'administration d'un extrait de sauge a diminué jusqu'à 30% la glycémie (taux de glucose dans le sang) de souris modérément diabétique et non-diabétique

Chez les souris ayant un diabète grave, la sauge n'a pas eu d'effet hypoglycémiant significatif, démontrant ainsi que l'extrait de sauge requière la présence d'insuline, pour exercer une régulation à la base du glucose sanguin. Il n'est pas possible dans les limites de cette étude, d'identifier les composés actifs responsables, des effets observés et encore moins de transposer les résultats chez l'humain. (**Alarcon et al., 2007**).

II.13.7. Régulateur hormonal :

La Saugue est un remède ancestral bien connue des femmes pour réguler le cycle menstruel et éviter le phénomène de syndrome prémenstruel.

Elle est aussi très utile pour minimiser les troubles de la ménopause bien que son action hormonale ne soit pas encore clairement élucidée, la sauge permet de réguler les bouffées de chaleur, elle aide l'organisme à s'adapter aux changements hormonaux durant cette délicate période (**Anonyme, 2013**).

II.14. Les principaux composants de la Saugue :

Les principaux composés organiques de la Saugue ainsi que sa valeur énergétique sont groupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau III : les valeurs nutritives de la Saugue (Pomerleau et al., 2006).

<i>Poids/Volume</i>	<i>Saugue moulue, 15ml/2g</i>
Calories	6,0 g
Protéines	0,2 g
Glucides	1,2 g
Lipides	0,3 g
Fibres alimentaires	0,8 g

✚ La Sauge contient également :

- **La vitamine K :**

La Sauge est une excellente source de la vitamine K. cette vitamine est nécessaire pour la synthèse de protéines qui participe à la coagulation du sang (autant dans la stimulation que dans l'inhibition de la coagulation sanguin).

- **Le fer :**

La Sauge est une source de fer pour l'homme, chaque cellule du corps contient du fer. Ce minéral est essentiel au transport de l'oxygène et à la formation des globules rouges dans le sang il joue aussi un rôle dans la fabrication de nouvelles cellules, hormones et neurotransmetteurs.

II.15. Autres domaine d'utilisation de l'espèce :

II.15.1. Cosmétique et parfumerie :

La Sauge est un fixateur de parfum bien connu dans le domaine de la parfumerie frottez une feuille de sauge sur votre peau avant d'appliquer votre parfum, il durera plus longtemps. utilisée dans les soins capillaires, la sauge permet de lutter contre les pellicules et donne de la brillance au cheveu. Son huile essentielle entre dans la composition de masque pour les peaux grasse ou acnéique (**Anonyme¹⁵, 2013**).

II.15.2. En cuisine :

Les feuilles servent en cuisine à parfumer les viandes surtout le gibier, quelques feuilles glissées dans les aliments gras tels que les farces et les ragouts leur donnent une saveur piquante très appréciée. Elle est rajoutée. aussi dans les bouillons et dans les vinaigres aux fins herbes (**Chaumeton , 1959**)

II.16. Toxicité :

Aucune toxicité aigue ou chronique n'a été signalée emplois aux doses usuelles des feuilles de sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jours). (**Rayaud, 2006**).

Il est recommandé de ne pas dépasser trois tasses d'infusion de sauge par jour pour que l'apport en thyone soit inférieur à 3 mg. Le traitement ne doit pas non plus excéder deux semaines.

Comme toute substance active, la sauge comporte des effets indésirables si on ne respecte pas les doses recommandées : nausées, vomissements, bouffées de chaleur, accélération des battements du cœur, vertiges et convulsions.

Du fait de leur action stimulante sur l'ovulation, les feuilles de sauge sont contre-indiquées pendant la grossesse et l'allaitement ou en cas de cancer hormono-dépendant (cancer du sein)

Les produits à base de sauge pourraient en effet interagir avec les neuroleptiques, certains médicaments prescrits contre l'épilepsie et les médicaments pour diminuer les troubles du sommeil ou l'anxiété (**Anonyme¹⁶, 2011**).

III.1. Matériel et Méthodes

III.1.1. Matériel végétale :

La Sauge est récoltée au niveau de la région de Boudjima en mois d’Avril 2014 à une altitude de 450m, pendant la période de floraison puis elle est débarrassée des impuretés, ensuite séchée à l’ombre à une température ambiante. Enfin, elle est coupée en parties très fines (2-5 mm). L’extraction a été réalisée au niveau du laboratoire d’agronomie à UMMTO et l’activité antibactérienne au niveau du laboratoire de C.H.U de Tizi-Ouzou.

Boudjima est située au nord-ouest de la wilaya de Tizi- Ouzou. Elle est délimitée (Fig .18) :

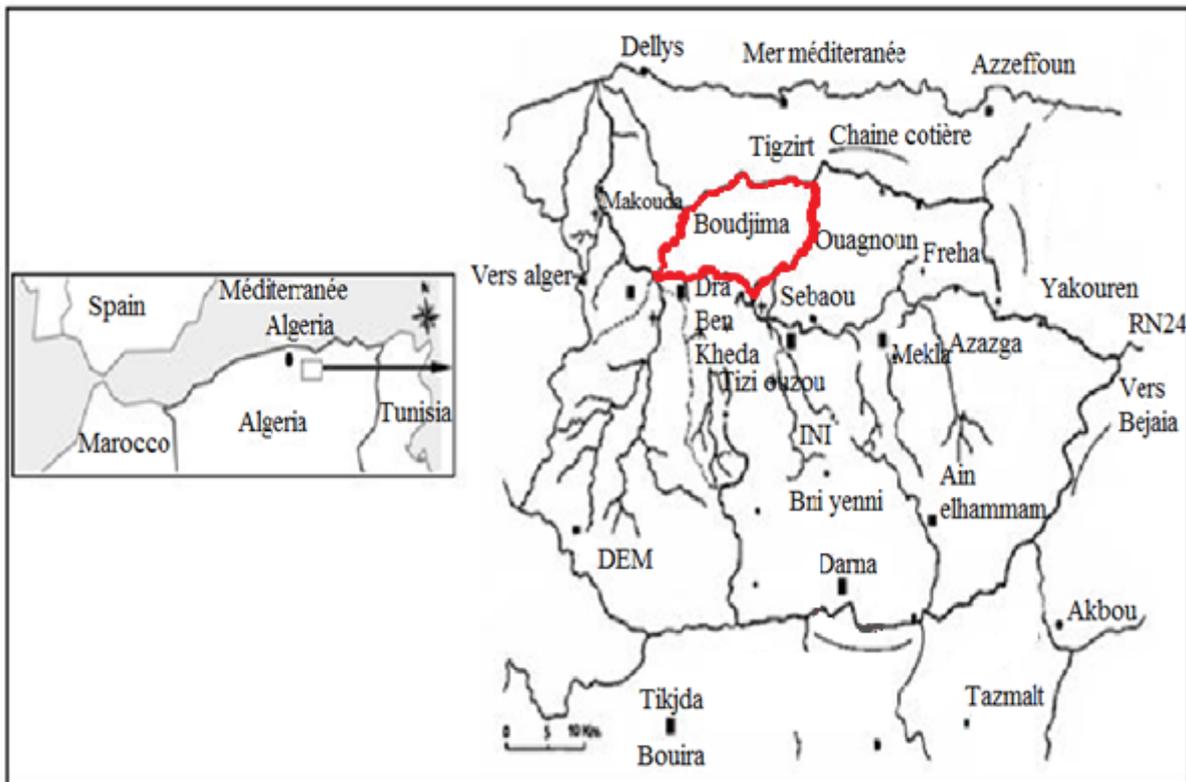
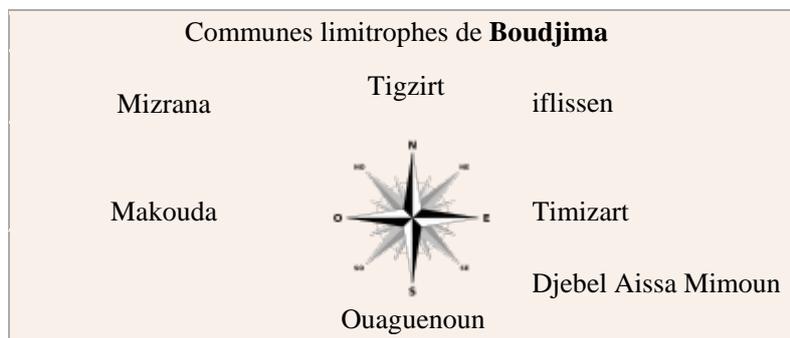


Fig. 18 : Localisation géographique de la région d’étude (Amroun, 2012).

III.2. Méthode d'extraction

III.2.1. Extraction d'huile essentielle :

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation. L'hydrodistillation a été réalisée à l'aide d'un dispositif expérimental de type *Clevenger* (Fig. 19). L'extraction dure 2h30. En plaçant 100g de matière végétale aérienne séchée dans un ballon avec de l'eau distillée, puis en chauffant. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant, l'huile se sépare de l'eau par différence de densité. L'huile essentielle est stockée à 4°C.



Fig. 19 : Dispositif de l'hydrodistillation de type Clevenger (Université de Tizi-Ouzou, Institut d'Agronomie, 2014).

III.2.2. Détermination du rendement :

Le rendement est défini comme étant le rapport de masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée (fraîche ou sèche)

$$R(\%) = mME / mMVS \times 100$$

R(%) : Rendement en huile essentielle

mME : masse d'huile essentielle

mMVS : masse de matière végétale sèche

$$mMVS = MmVF (1 - TH)$$

$$TH = 1 - (mMVS / MmVF)$$

TH : Taux d'humidité

mMVF : masse de matériel végétal frais

$$TH = 1 - (60 / 100)$$

$$TH = 40\%$$

III.3. Mode opératoire :

III.3.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation :

Introduire dans un ballon la matière végétale puis l'immerger d'eau au²/₃ de la capacité du ballon.

Adapter au ballon l'appareil de condensation et alimenter le réfrigérant en eau.

Régler le chauffage de sorte à avoir une à deux gouttes de distillat par seconde. Le distillat étant récupéré par la suite dans un erlen-Meyer.

III.3.2. Séparation de l'huile essentielle de la phase aqueuse par décantation :

L'huile essentielle est séparée des eaux de condensation par extraction liquide avec un solvant organique (éther diéthylique), dans une ampoule à décanter dans laquelle le mélange précédent se sépare en deux phases non miscibles.

Une phase aqueuse plus dense, se situe dans la partie inférieure et une phase organique de densité plus faible contenant l'huile essentielle se situe au dessus. Pour une séparation plus nette des deux phases nous ajoutons du chlorure de sodium (NaCl).

Après passage à travers le papier filtre contenant un sel de sulfate de sodium anhydre qui sert à piéger les molécules d'eau, l'huile est récupérée dans le tube à essai après évaporation de l'éther à l'air libre.

III.4. Tests biologiques

III.4.1. Test antibactérien et antifongique

III.4.1.1. Évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles :

La technique que nous avons utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles à étudier est la méthode de diffusion en milieu gélosé (solide) appelée également l'aromatogramme, en utilisant des disques absorbants en papier filtre de 6mm de diamètre.

III.4.1.2. Les souches bactériennes utilisées

Sept bactéries pathogènes impliquées fréquemment pour déceler l'activité antibactérienne d'huile essentielle de la *Sauge officinalis* sont recensées dans le tableau IV :

Tableau IV : Quelques caractéristiques des souches microbiennes d'après George (2001).

Gram	Nom de nos souches testées	N° ATCC	Famille	Principales causes d'infections
Gram Negative	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Enterobacteriaceae</i>	-Diarrhées dysenteries; -Gastro-entérites.
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	/	<i>Enterobacteriaceae</i>	-vasodilatation; -troubles neurologiques et gastro-intestinaux.
	<i>Proteus mirabilis</i>	/	<i>Enterobacteriaceae</i>	-infection du tractus urinaire.
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	pseudomonacea	-crampes abdominales; -troubles digestives.
Gram Positive	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	<i>Micrococcoceae</i>	-gastro-entérites; -infections urinaires; -l'ostéomyélite et l'arthrite.
	<i>Streptococcus sp</i>	/	<i>Streptococcaceae</i>	-pneumopathie ; -infections urinaires ; -otites ; -endocardites ; -angines ; -méningite.
Levure	<i>Candida albicans</i>	ATCC 2001	<i>Cryptococcaceae</i>	-lésions cutanées ; -infections génitales.

III.4.1.3. Test de confirmation des souches bactériennes utilisées :

En plus de la morphologie et du mode de regroupement des cellules bactériennes, la coloration de Gram ou la coloration double, permet de différencier entre les deux types de bactéries (Gram+ et Gram-).

La coloration de Gram est basée sur la capacité des différentes structures de la paroi bactérienne à retenir ou non la coloration violette du violet de gentiane, cette coloration nous renseigne sur la morphologie des bactéries.

Les résultats de confirmation après la coloration de gram effectués sur les différentes bactéries utilisées sont regroupés dans le tableau ci-dessous

Tableau V : Observations des différents caractères morphologiques selon les bactéries utilisées d'après Carbonnelle *et al.* (2005).

Les bactéries testées	Les caractères morphologiques
<i>Staphylococcus aureus</i>	Il s'agit de cocci à gram positif de taille variable (0.5 μ à 1.5 μ). Les <i>staphylocoques</i> sont des cocci qui tendent à se grouper en amas irréguliers de la façon d'une grappe de raisin.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Le genre <i>pseudomonas</i> est fait de bacilles mobiles à gram négative.
<i>Escherichia coli</i>	<i>E.coli</i> sont des bacilles à gram négative.
<i>Proteus mirabilis</i>	Les bacilles à gram négative, mobiles ou immobiles.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Sont des bacilles à gram négative toujours immobile capsulée.
<i>Streptococcus sp</i>	Les bactéries appartenant au genre <i>streptococcus</i> sont des cocci à gram positif disposé en chaînettes plus ou moins longues ou en diplocoques

III.4.2.Mode opératoire : selon Rahal (2011)

III.4.2.1. Préparation du milieu de culture :

- **Le milieu Muller-Hinton** en gélose est liquéfié par ébullition 80°C puis maintenu à la température (45° C) jusqu'au moment de l'emploi. Il peut être supplémenté en sang frais ou sang cuit, en fonction des microorganismes testés (les streptocoques).

Le milieu Muller-Hinton doit être coulé sur boîtes de pétri d'une épaisseur de 4mm. Il doit refroidir et se solidifier sur la paillasse.

- **Le milieu Sabouraud (SAB)** pour les levures.

III.4.2.2. Préparation d'inoculum :

A partir d'une culture pure (de 18 à 24h) sur milieu d'isolement approprié, on racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Bien homogénéisée la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 MF ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est souhaitable.

III.4.2.3. Méthode de diffusion ou d'aromatogramme :

La méthode d'aromatogramme est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle à tester. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de l'huile essentielle sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de pétrie.

Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'huile essentielle sur les bactéries, et de déterminer la résistance ou la sensibilité de ces bactéries à cette huile.

a. Ensemencement :

Un écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum puis essoré. On le passe fermement en le tournant contre la paroi interne du tube afin de déposer le maximum de bactéries.

L'écouvillon est frotté de haut en bas en stries serrées sur la totalité de la surface gélosée séchée.

L'opération est répétée 2 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, puis on fini l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

b. Application des disques :

Un disque stérile (papier filtre) est prélevé à l'aide d'une pince bactériologique stérile, et est imbibé avec l'huile essentielle jusqu'à son imprégnation total.

Les disques déposés sur le milieu de culture ne doivent pas être déplacés après application. Ces derniers sont laissés diffuser pendant 1heure à 4 °C.

Les boîtes sont ensuite mises à incuber, à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48heures pour les levures.

c. Lecture :

Mesure avec précision le diamètre des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

Pour les bactéries testées sur milieu **Muller-Hinton** simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de pétri fermée.

Pour les bactéries testées sur milieu Muller-Hinton au sang, les mesures de diamètres des zones d'inhibition seront prises en boîte de pétri ouverte et bien éclairée.

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est représentée dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI : Représente l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne (Ponce *et al.*, 2003) .

L'activité antimicrobienne.	Le diamètre de zone d'inhibition (D) en mm.
Extrêmement sensible +++	plus de 20
Très sensible ++	de15 à 19
Sensible +	de 8 à 14
Non sensible -	moins de 8

III.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur milieu solide :

III.5.1. Principe :

On appelle concentration minimale inhibitrice (CMI) la plus petite concentration antibiotique inhibant toute croissance visible du germe.

Ainsi, la CMI apparait comme un point limite macroscopique, aisément lisible mais peu précis (Carbonnelle *et al.*, 2005).

III.5.2. Protocole expérimental :

III.5.2.1. Préparation de la suspension microbienne :

Des cultures microbiennes sont réalisées dans les milieux solides **Miller-Hinton** pour les bactéries et **milieu Sabouraud** pour les levures.

Les bactéries sont incubées pendant 24h et les levures pendant 48h. Des suspensions bactériennes et de levures sont réalisées.

Des lectures de ces suspensions sont réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre dans le but d'obtenir une concentration de 10^6 germes/ml.

III.5.2.2. Préparation de la gamme de dilution de l'huile essentielle:

L'huile essentielle de la Sauge a été dissoute dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations des dilutions successives au demi.

Une gamme de dilution de l'huile essentielle allant de $1/2$ jusqu'à $1/32$ est utilisée.-

Ce choix a été fait, parce que le diméthyle sulfoxyde est un solvant utilisé pour la majorité des auteurs, qui ont prouvé que le diméthyle sulfoxyde n'a aucun pouvoir antibactérien.

(Soufit S., Bennacer K., 2014)

La réalisation des dilutions se fait comme suit :

- 100µl d'huile essentielle est dilué dans 100µl de diméthyle sulfoxyde (dilution $1/2$).

A partir de la dilution $1/2$ on prend 100µl du mélange et on ajoute 100µl de diméthyle sulfoxyde (dilution $1/4$).

On procède de la même manière jusqu'à l'obtention de la dernière dilution ($1/32$).

- La boîte témoin (négative) contenant le disque stérile en papier filtre imbibé (20µl) le diméthyle sulfoxyde DMSO.

IV.1. Résultats

IV.1. Etude phytochimique

IV.2. Le rendement des extractions :

L'huile d'extraction obtenue par hydrodistillation est un liquide visqueux, limpide d'une coloration jaunâtre et à odeur camphrée à épicée. Cette dernière possède des caractères organoleptiques comparables à ceux signalés dans la norme (Afnor., 2000).

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité. Le rendement enregistré avec les extraits bruts de *Salvia officinalis* est de 2,21%.

Il est supérieur à celui cité par Aitguenissaid et Elharani ,2008 (1,54%), Benkherara, 2011 (1,52%) et Ameziane , Alimarina ,2007 (0,20%).

Ces fluctuations des rendements en huiles essentielles peuvent être expliquées par la différence de provenances des plantes et la période de récolte.

Cette différence des résultats explique le rôle que peuvent jouer les facteurs environnementaux et climatiques sur la composition chimique et sur la qualité de l'extrait de l'espèce végétal (Benkherara, 2011).

Tableau VII: Différents rendements de la Sauge.

Les noms	Amezian et Alimarina	Aitguenissaid et Elharani	Benkherara	Nos résultats
La région	Jardin d'essai d'Elhamma(Alger)	Timizart (Tizi- Ouzou)	Parc national d'El kala nord-est Alger	Boudjima (Tizi-Ouzou)
Mois et année	Juin 2007	Mai 2008	Juin 2011	Avril 2014
Partie utilisée	partie aérienne sèche	feuille, rameaux (sèche)	Feuilles sèche	partie aérienne sèche
Le rendement (%)	0 ,20	1,54	1,52	2,21

IV.2. Résultats de l'activité antimicrobienne

IV.2.1. Effet des extraits sur la croissance des bactéries

L'activité antimicrobienne des extraits est testée sur sept souches (six souches bactériennes et une souche fongique).

Cette activité est évaluée par **méthode d'aromatogramme**. L'action antimicrobienne de cette huile essentielle est obtenue par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en mm.

IV.2.2. Résultats de l'étude qualitative de l'activité antimicrobienne :

IV.2.2.1. Aromatogramme de l'huile essentielle de la Sauge :

La méthode d'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir Antibactérien des extraits d'huile sur les souches testées.

Les résultats consigne dans le tableau et illustré dans les figures : 20,21,22,23,24,25,26.

Tableau VIII : Zones d'inhibition en (mm) obtenues à partir de différentes souches bactériennes testées au niveau du CHU de Tizi-Ouzou.

Gram	Souches bactériennes	Diamètre de la colonie zone d'inhibition (mm)
+	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	15
+	<i>Staphylococcus aureus</i> (CHU)	12
+	<i>Streptococcus sp</i> (CHU)	12
-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (CHU)	14
-	<i>Escherichia coli</i> ATCC	12
-	<i>Escherichia coli</i> (CHU)	12
-	<i>Proteus mirabilis</i> (CHU)	12
-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC)	06
-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CHU)	06
/	<i>Candida albicans</i> (CHU)	12

a. Bactéries Gram positif :

L'action de l'huile essentielle '*Salvia officinalis*' sur *Staphylococcus aureus* ATCC montré une activité très sensible (Fig.20) et sur *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus sp* une activité sensible (20,21).

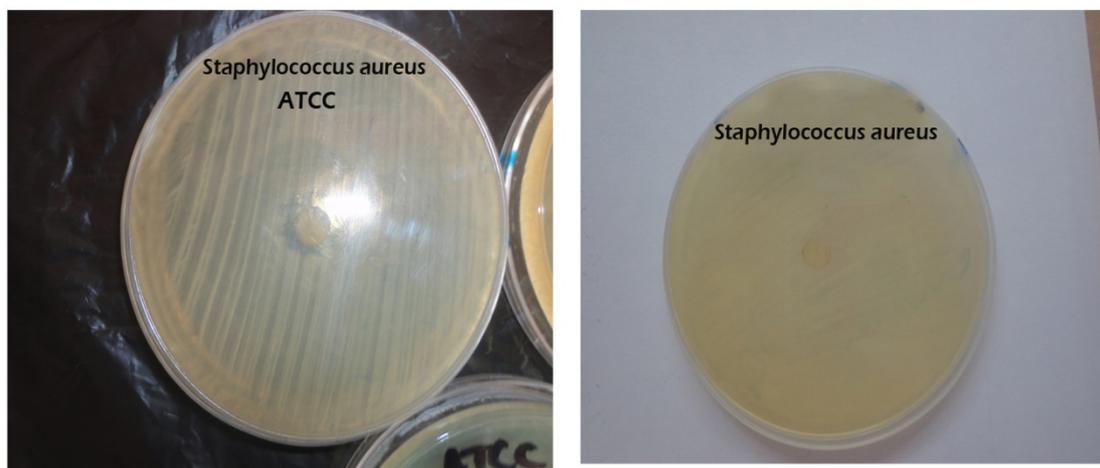


Fig. 20 : Zone d'inhibition sur *staphylococcus aureus*.

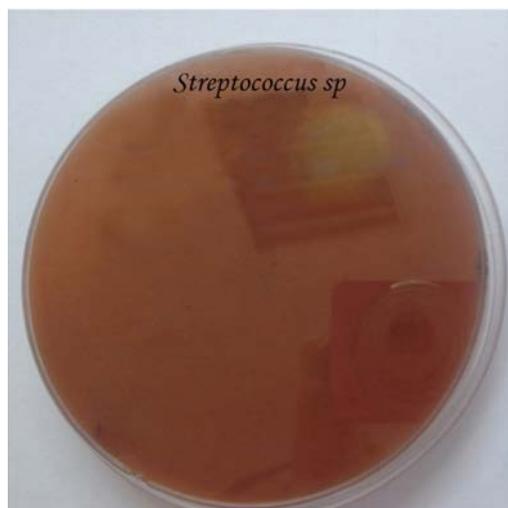


Fig. 21 : Zone d'inhibition des huiles essentielles étudiées sur *streptococcus sp*.

b. Bactéries Gram négatif :

L'action de l'huile met en évidence une activité sensible sur *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* (Fig.22, 23, 24) et aucune réaction de sensibilité sur *Pseudomonas aeruginosa* (Fig. 25).

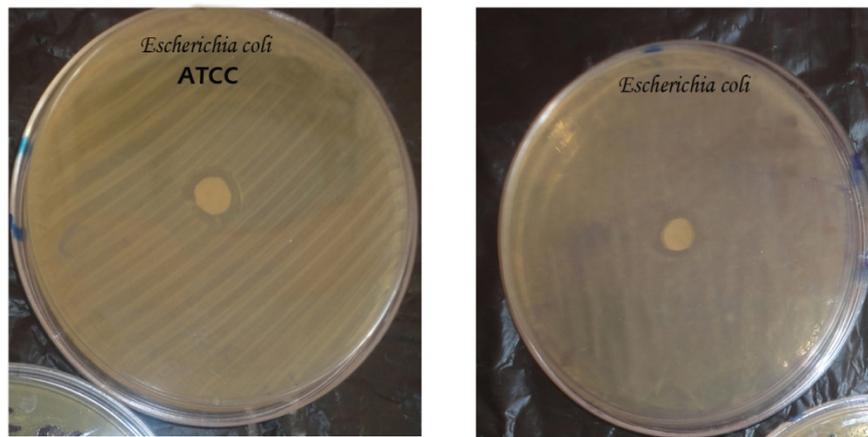


Fig. 22 : Zone d'inhibition d'*Escherichia coli*.



Fig. 23 : Zone d'inhibition de la souche *klebsiella pneumoniae*.

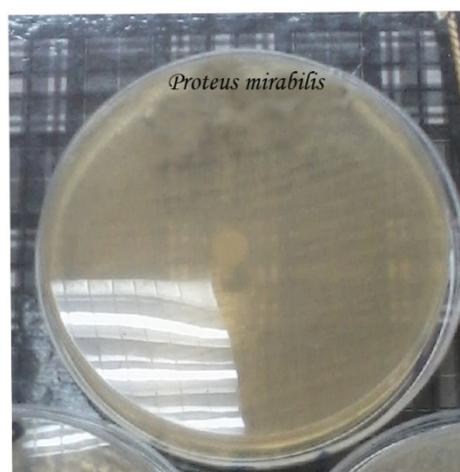


Fig. 24 : Zone d'inhibition des huiles essentielles étudiées sur *Proteus mirabilis*

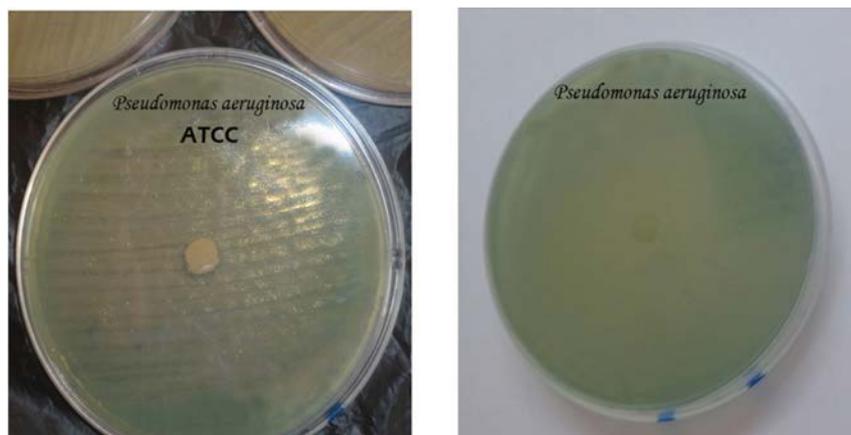


Fig. 25 : Absence de l'activité de l'huile essentielle sur *Pseudomonas aeruginosa*.

c. Levures :

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* a montré une activité sensible sur la souche *Candida albicans* (Fig. 26)

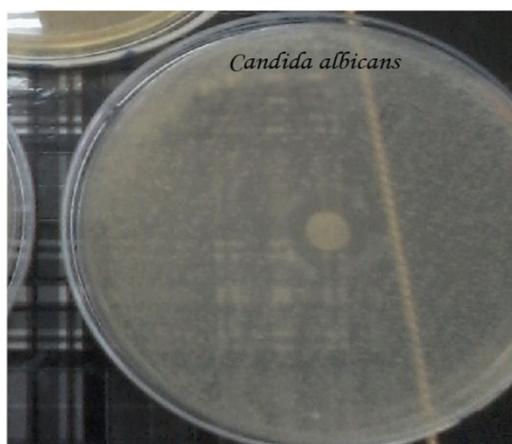


Fig. 26 : Zone d'inhibition des huiles essentielles étudiées sur *Candida albicans*.

IV.2.3 .Résultats de l'étude quantitative de l'activité antimicrobienne :

Pour chacune des souches ayant montrées un certain degré de sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle étudiée, la détermination de la CMI a été effectuée par la méthode de dilution en milieu solide.

Les valeurs de CMI de l'huile essentielle étudiée sur les souches testées, sont indiquées sur la fig. 27 et tableau IX .

Tableau IX : Les différentes concentrations minimales inhibitrices.

Gram	Souches bactérienne	Diamètres de la zone d'inhibition (mm)					
		Les dilutions de l'huile essentielle de la Sauge					
		1/2 (0.5)	1/4 (0.25)	1/8 (0.125)	1/16 (0.0625)	1/32 (0.03125)	Témoin
+	<i>Staphylococcus aureus</i> (CHU)	12	10	06	06	06	06
+	<i>Streptococcus sp</i> (CHU)	11	10	06	06	06	06
-	<i>Escherichia coli</i> (CHU)	11	08	06	06	06	06
-	<i>Klebsielle pneumoniae</i>	12	11	08	06	06	06
-	<i>Proteus mirabilis</i>	11	10	06	06	06	06
-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CHU)	06	06	06	06	06	06
/	<i>Candida albicans</i> (CHU)	11	10	06	06	06	06

D'après le tableau :

Cette huile essentielle inhibe l'activité des bactéries Gram+ positif et celle des levures à une concentration de 0,25%, par contre sur des bactéries à Gram- négatif, elle varie entre 0,25% et 0,125 (Fig. 27).

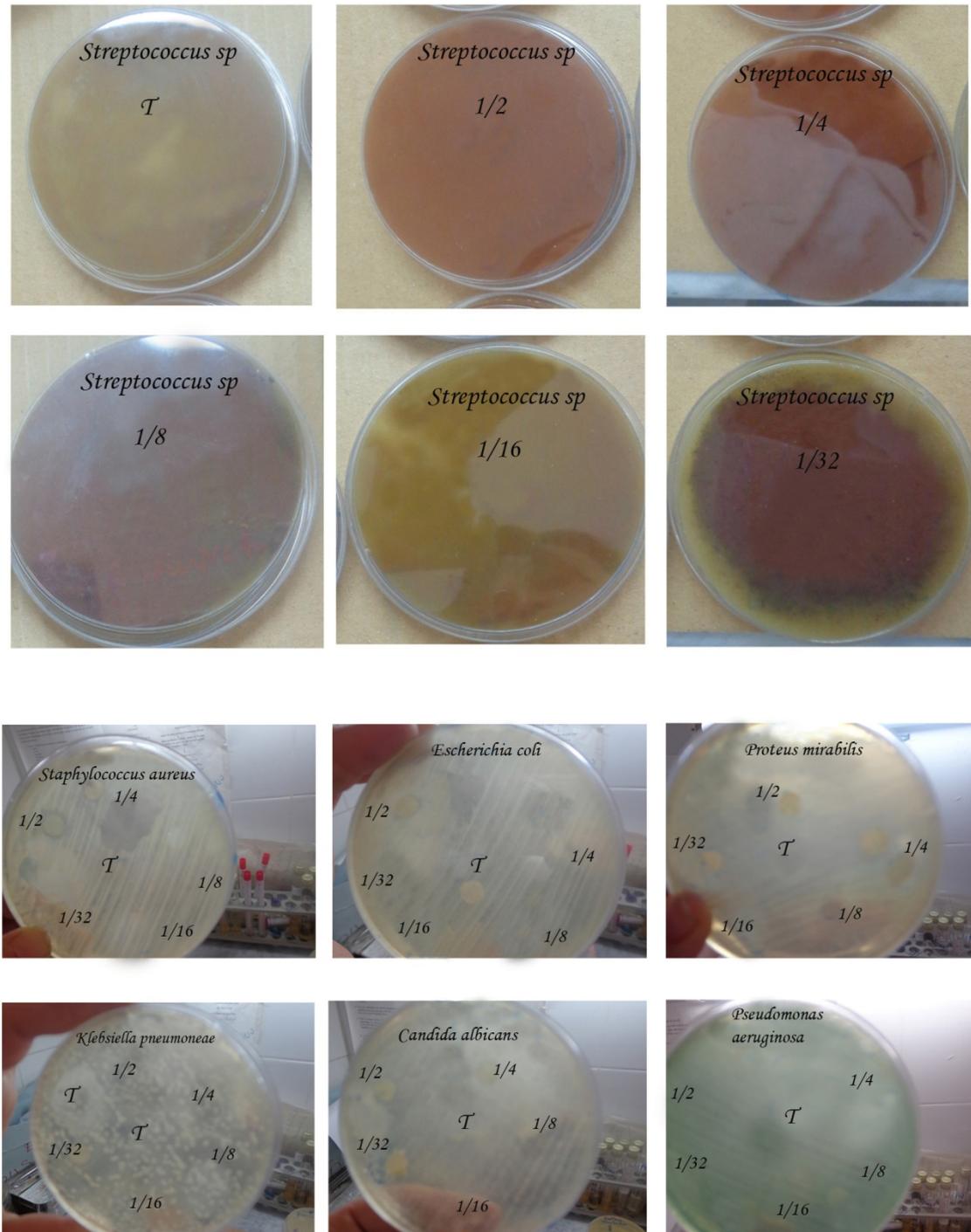


Fig. 27 : Détermination des CMI de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur les différentes souches testées.

IV.7. Discussion des résultats de l'activité antimicrobienne:

Les résultats obtenus sont en général en accord avec les études précédemment rapportées dans la littérature. En effet, plusieurs publications ont prouvé l'effet antimicrobien des huiles essentielles des plantes y compris le Laurier, Romarin, Basilic, arbre à Thé, Sauge, Céleri et Fenouil (Moris *et al.*, 1979; Ross *et al.*, 1980; Youcef et Tawil, 1980 ; Hili *et al.*, 1997 ; Lis-balchin et Deans, 1977 ; Benkherara *et al.*, 2011). Mais selon Janssen *et al.* (1987), Valero et Salmeron (2003) et Pibiri (2006), il est très difficile de faire une comparaison entre les résultats trouvés et la bibliographie, ce qui est sans doute dû à :

- ✚ La nature du matériel végétal (espèce, extrait ou l'huile essentielle, origine géographique, altitude, saison de cueillette);
- ✚ Procédé d'extraction ;
- ✚ Composition chimique de l'huile essentielle ;
- ✚ Niveau de pureté du produit final et sa conservation ;
- ✚ Méthode utilisée pour estimer l'activité antimicrobienne ;
- ✚ Milieu de culture employé;
- ✚ Qualité de souches testées.

Toutes les souches microbiennes testées ont montré un certain degré de sensibilité à l'huile essentielle à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée résistante.

D'après Nikaido. (2003), ces résultats pourraient être dus à la composition chimique de la membrane externe des bactéries gram négative. En effet, ces dernières possèdent une membrane qui présente une perméabilité sélective ; la surface des lipopolysaccharides contient des charges négatives qui empêchent la diffusion des molécules hydrophobes, et des porines qui bloquent le passage des molécules à haut poids moléculaire.

Selon Mann *et al.* (2000), la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux huiles intrinsèques aux agents biocides est en relation avec la nature de sa paroi. Cette dernière est dotée, comme toute bactérie gram- d'une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et une assise externe constituée de lipopolysaccharides et de protéines. Cette structure constitue une barrière imperméable aux composés hydrophobes, elle empêche la pénétration d'huiles en protégeant la couche de peptidoglycane.

Toutefois, **Kivanc et Angula (1986)** ; **Tasson et Nychas (1995)**; **Chao et al. (2000)**; **Mann et al. (2000)**; **Inouye et al. (2001)**, ont rapporté que la faible susceptibilité de *Pseudomonas aeruginosa* à l'action des huiles essentielles peut être due à sa membrane externe particulière et, à sa capacité de métaboliser un éventail de composés organiques. Ce ci peut expliquer son niveau élevé de résistance, elle peut simplement métaboliser les constituants de l'huile essentielle qui sont considérés comme inhibiteurs d'autres bactéries.

Staphylococcus aureus s'est avéré la plus sensible à l'action des huiles essentielles parmi les bactéries gram+, cette sensibilité accrue est confirmée par les résultats de **Aktug et Karapinar (1986)**; **Hammer et al. (1986)**; **Friedman et al. (2002)**; **Velickovic et al. (2003)**; **Dipaska et al.(2005)**; **Ameziane et Alimarina (2007)**; **Aitguenissaid et Elharani (2008)**

Klebsiella pneumoniae s'est montré la plus sensible à l'action des huiles essentielles parmi les bactéries gram-, cette forte activité des huiles essentielles sur *Klebsiella pneumoniae* est confirmée par **Boussebia., (2004)**; **Kabouche et al., 2005** et **Aitguenissaid et Elharani, 2008.**

L'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est à mètre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les composants.

Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant (**Dorman et Deans, 2000**), l'activité des huiles essentielles est souvent réduite à l'activité de ces composés majoritaires, ou ceux susceptible d'être actifs.

Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique .De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à l'intégralité de ces composants et non seulement à ces composés majoritaires.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle analysée peut être attribuée principalement à son constituant, par exemple les alcools terpéniques qui sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes parceque il sont solubles dans les milieux aqueux et ils provoquent d'importants dégâts sur les parois cellulaires des microorganismes (**Fillippi et al., 2006**).

Le linalool est un composé mono terpène parmi les principaux constituants volatils d'huiles essentielles de plusieurs espèces aromatiques. Très utilisé dans la médecine traditionnelle grâce à son activité pharmacologique (**Penna et Moretti., 2002**).

Des recherches ont également signalé, une activité antimicrobienne contre plusieurs bactéries et champignons (**Carson et al., 2002**). Par ailleurs, le linalool, ainsi que certains terpènes et terpénoïdes, pourraient améliorer la perméabilité d'un nombre de médicaments à travers les tissus biologiques comme la peau ou muqueuses. Plusieurs activités biologiques, sont attribuables à ce composé mono terpène de forme racémique. Les résultats obtenus par (**Penna et al., 2002**) ont confirmé la présence d'une bonne propriété anti-inflammatoire. En terme d'activité antibactérienne, c'est le linalool qui s'est montré le plus efficace et a inhibé 17 bactéries.

Selon **Benkherara et al. (2011)**, cette activité antimicrobienne des huiles essentielles de la Sauge est due à la richesse des huiles essentielles en substances ; il s'agit probablement des phénols qui sont doués d'une forte activité antimicrobienne. La puissance de cette activité prouve de plus en plus l'efficacité de ces substances face à des bactéries pathogènes.

Les composés, ayant la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre, sont les phénols. Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utilisés dans les infections bactériennes quelle que soit leur localisation. Il exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et parmi elles, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, sur lesquelles ils provoquent des fuites d'ions potassium, cette fuite potassium est la première preuve de l'existence de lésion irréversible au niveau de la membrane de la bactérie. Les huiles essentielles de *Salvia officinalis* ont donc bien des propriétés bactériostatiques.

L'utilisation d'un microscope électronique a permis de montrer que les huiles essentielles attaquaient en même temps les membranes et les parois cellulaires (**Rayour et al., 2003**).

La membrane externe des bactéries gram positives est très chargée elle agit comme une barrière aux huiles essentielles. Il a été suggéré que les huiles essentielles actives contre les bactéries à gram négatif contiennent des composants de métabolites secondaires qui sont assez petits pour passer à travers les protéines dans les récepteurs de la membrane externe et ainsi de pouvoir accéder à la membrane cytoplasmique (**Dorman et Deans, 2000**).

Dans le cas des bactéries à gram négatif, les protéines qui se trouvent dans la membrane externe sont désactivées avant qu'elle n'atteignent la membrane cytoplasmique et le cytoplasme (**Fujisawa et al., 2009**).

Toutefois, les produits des métabolites secondaires contenant de l'oxygène, tels que les phénols, tendent à afficher une forte activité antimicrobienne. Les groupes hydroxyles sont

censé contribuer à la perturbation normale du transport d'ion à travers la membrane cytoplasmique (Ultee *et al.*, 2002) et dans l'inactivation des enzymes microbiennes (Burt, 2004).

Notre étude *in vitro*, révèle que l'huile essentielle étudiée présente une activité antimicrobienne acceptable sur l'ensemble des souches testées. Cette dernière est confirmée par une étude complémentaire par la détermination des CMI.

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* a exercé une action bactériostatique sur la plus part des souches testées gram+ à une concentration de 0,25% et pour les gram- de 0,25% et levure de 0,25%.

Les valeurs des CMI de l'huile essentielle de la Sauge obtenus dans le cas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis* concordent avec celles trouvées par **Benkherara (2011)** et le cas de *Candida albicans* concordent avec celles trouvées par **Ameziane et Alkimarina (2007)**, par contre celles obtenues dans le cas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* sont désaccord avec les valeurs constatée par **Ameziane et Alimarna (2007)** ; **Aitguenissaid et Elharani (2008)**.

Conclusion :

L'utilisation des plantes en thérapeutique (phytothérapie) est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent.

La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux. Notre pays est doté d'une biodiversité végétale immense, qui reste à découvrir et une grande partie de cette flore est constitué par des espèces médicinales.

Ce travail à porté dans un premier temps sur l'extraction des huiles essentielles de la partie végétale de la plante.

Dans un deuxième temps, la recherche d'activité biologique et les potentialités que peuvent avoir ces extraits *in vitro* à savoir les capacités antifongiques, antibactériens.

Les résultats de cette présente étude montrent clairement que les substances naturelles sont capables d'inhiber la croissance de certaines bactéries et champignons. Cette inhibition est rangée entre 0,25% et 0,125%. En effet ont observe :

- Une inhibition plus marquée chez les souches *Staphylococcus aureus*.
- Une inhibition moins marquée chez et *Streptococcus sp* , *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*.
- Une inhibition quasiment absente chez *Pseudomonas aeruginosa*.

En conclusion, ce travail pourra ouvrir de nouvelles perspectives pour d'autres études plus complètes et édifiantes à savoir :

- Une analyse par HPLC.,
- Une étude histologique pour la localisation des lieux de stockage et les sites sécréteurs des huiles essentielles.,
- Une étude de l'activité antioxydante.

- **Afnor., 2000.** Les huiles essentielles, Recueil de normalisation française, Ed. Paris, 134 p.
- **Ait Guenissaid O., Elharani S., 2008.** Extractions des huiles essentielles de *Laurus nabilis* et de *Salvia officinalis* et évaluation de leur activité antimicrobienne, mémoire de DES., Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 77 p.
- **Akhondzadeh S., Noroozian M., Mohammadi M., (2003):** « *Salvia officinalis* extract in the traitement of patients with mild to moderate alzheimers disease a double blind randomized and placebo-controlled Trial ». *Journal . clin. Pharm. Ther.*, 53-59.
- **Aktug S.E., Karapinar M., 1986.** Sensitivity of some common food-poising bacteria to thyme, mint and leaves. *International Journal of food. Microbiology; N° 3:* 349-354.
- **Alarcon., Aguilar F.I., Roman., Romos R., Flors., Saenz J.L., (2002):** « Investigation on the hypoglycemic effects of extracts of four mexican medicinal plants in Normal and alloxan-diabetic mice ». *Phytother Res;* **vol 16:** 383-386.
- **Ameziane N., Alimarina K., 2007.** Extraction des huiles essentielles de la sauge et du romarin, contribution à l'étude de son action sur certain agents pathogènes de l'homme, de la CMI. Mémoire de DES., Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 84 p.
- **Amroun M., 2012.** Situation géographique des régions nord d'Algérie, Ed : Alger, P139.
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., et Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, **vol : 46:** 40 - 42.
- **Beloued A.E.K., 2001.** Plantes médicinales d'Algérie. O.P.U. Alger, 277p.
- **Benayad N., 2008.** Les huiles essentielles des plantes médicinales du Maroc : Moyens efficaces de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, Ed., Maroc, 223 p.
- **Benkherara S., 2011.** Revue des sciences et de la technologie. Ed. Université Badji Mokhtar- Annaba, N°2 : 72-78.
- **Bezager L., Beurqueen M.P., Torck M., et Troin F., 1980 .**Plantes médicinales des régions tempérés. Ed., Maloine, Paris, 205 p.
- **Botineau M., 2010.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed., Lavoisier, Paris, 1043 p.
- **Bousbia N., 2004.** Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin). *Thèse Magister.* INA. ,130 p.

- **Bruneton J., 1993** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales . Ed., Lavoisier, TEC et DOC., Paris 1^{ère} édition, 440 p.
- **Bruneton J., 1995.** Pharmacognosy, Phytochemistry and medicinal plants. Technique et documentation. Ed., Lavoisier, paris, 526 p.
- **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. Technique et Documentation, 2^{ème} Ed., Lavoisier, Paris, 515 p.
- **Bruneton J., 2002.** « Pharmacognosie, Phytochimie des plantes médicinales. ».3^{ème}Ed., Paris, 544 p.
- **Burt S., 2004.** Essential oils ,their antibacterial propertier and potential applications in foods review.Int .J.Food Microb.,**vol 94** :223-226.
- **Cabaret J., (1986) :** « 167 plantes pour soigner les animaux, phytothérapie vétérinaire, point vétérinaire ».1^{ème} Ed., Paris, 209 p.
- **Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A., 2007.** Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*; **vol 90**: 2580–2595.
- **Campanella I., Bonanni A., Favorog., (2003):** « Determination of antioxidant properties of aromatic herbe, olives and fresh fruit using an enzymatic sensor. ». *Journal bioanal chimie*; **vol 375**:1011-1016.
- **Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinong., Vargues R., 2005.** Bactériologie Médicale, *Techniques usuelles*. Ed., Paris, 201 p.
- **Carson C.F ., Mee B.J ., Riley T.V ., 2002 .** Mechanium of action of Mela leuca alternifolia oil on staply determined by time Kill , lusion , Leakage and salttolancea ssays and electron microscopy antimicrob , agents chemother. Ed., Canada; **vol 46** :1914-1920.
- **Chao S.C., Young D.G., Oberg G.T., 2000.** Screeming for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal. Essential oil .Res*; **vol 12**: 639-649.
- **Chaumeton H., 1959.** Les plants aromatiques, comment les reconnaitre.Paris.Solar.355-358p.
- **Colombatto D., Mcallister T.A., 2008.** Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Journal Animal Feed Science and Technology*, **vol 145**: 209–228.
- **Cretti., (1981) :** « Les plantes aromatiques et médicales, comment les reconnaitre et les utiliser ». Ed., ATLAS, 197 p.

- **Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G., 2000.** Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of plants*. Ed. American Society of Plant Physiologists, 1250-1268.
- **Dipasqua R., De Feo V., Villani F., Mauriello G.,2005.**In vitro antimicrobial activity of essential oils from mediterranean Apiceae,Verbenaceae and Lamiaceae against food borne Pathogens and Spoilage bacteria.*Annals of Microbiology*.55(2).139-143p.
- **Dorman H.J.J., et Deans S., 2000.** Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *Journal of applied Microbiology*. N° 2(88) : 308-316.
- **Durvelle J.R., 1930.** Fabrication des essences et des parfums. Ed., Paris, 200 p.
- **Filippi J.J ., lanfranchi D.A ., Prado S .,Baldovini N ., Meierhenrich U.J .,2006.** Composition, distribution and antibacterial activity of the essential oil if achillea ligustica all francorsica, *Journal agric food chem.*, vol 54: 6308-6313.
- **Franchomme P., Penoël D., 1990.** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois éditeur.Limoges, 445 p.
- **Franchomme P. et Penoeld D. (1990).** Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R.Jollois Edit., Limoge, 446 p.
- **Freidman M., Henika P.R J., Handrell R.E., 2002.** Bactericidal activities of plant essential oils and some of their constituents against Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes and Salmonella enterica. *Journal. Food Prot*, vol 65:1545-1560.
- **Frohne D., Pfander H., Anton R., 2009.** Plantes à risques. Ed., Lavoisier, Paris, 244 p.
- **Fujisawa H.,Watanabe K.,Suma K.,Origuchi K.,Matsufuji H.,Seki T.,Ariga T., 2009.** Antibacterialpotential of garlic-derived allicin and its cancellation by sulfhydryl compouds.*Journal of Biotechnologie and Biochemistry*.vol :73 :1948-1951.
- **Goeb P.H. (1999),** Aromathérapie pratique et familiale. Ed. MDB., France,130 p
- **George M., Garrity J A., Bell and Tinathy G., 2004.** Taxonomic outlin of the Prokaryots Bergey's manuel of systematic Bacteriology.2^{eme} Ed., Bergey's Manual Trust, 250 p.
- **Ghestem A., Seguium E., Paris M., Orecchioni A.M., 2000.** Le préparateur en pharmacie. Botanique : *Botanique, pharmacognosie, homéopathie*. Ed., Tec et Doc, Paris, 143-146.
- **Guignard J.L., Dupont F. (2004) :** « Botanique systématique moléculaire ». 13^{ème} Ed., Masson, Paris, 234-235.

- **Hammer K.A., Carson C.F. et Riley T.V., 1999.** Antimicrobial activity of essential oils and their extracts. *Journal of Appl. Microbiol*, **vol 86**: 985-990.
- **Hili P., Evans C.S., Veness R.G., 1997.** The effect of dimethylsulfoxide on the activity of cinnamon oil. *Journal of Antimicrobial action of essential oils*; **vol 39**: 818-822.
- **Hogg w., SJ terhune , and N.Pichitakul ., 2005 .** Essential oils and their constituent's .IX. The oils of *Ounum samctum* and *ocinum basicum* from Thailand. Ed., Flavor Ind; *N° 3*,47-49.
- **Hostetmann K. (1997).**Tout savoir sur le pouvoir des plantes, Ed. Favre, S.A., Lausanne, Suisse, 225p.
- **Inouye S., Takizwa T., Yamaguchi H., 2001.** Antimicrobial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact.J.of Antimi-chemo.vol : 47,p : 565-573.
- **Janssen A.M, Scheffer J.J.C., Svendsen A.B., 1987.** Antimicrobial activity of essential oils. *Journal of Planta Medica*, **vol 53**: 395-398.
- **Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-kaki Z., Bentabed K., 2005.** Comparative antimicrobial activity of five lamiaceae essential oils from Algeria. *The international journal of aromatherapy*. *N° 15*; 129-133.
- **Karray K., Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Marzouk B., 2009.** Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. Ed., Industrial Crops and Products; **vol 30**: 338–343.
- **Kivanc M. et Angula J., 1986.** Antimicrobial activities of essential oils from Turkish spices and citrus. Ed., Flav and Fragr.,*N°1*: 175-179.
- **Leclerc H., 1983.** Précis de phytothérapie (thérapeutique pour les plantes françaises). 5^{ème} Ed., Masson, Paris, 180 p.
- **Lina C.F., Andrada P.B., Seabra R.M., (2005) .** « The dinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats.» Ed., American ; **vol 97**: 383-389.
- **Lisbalchin M., Hart S., 2000.** Pharmacological and antimicrobial studies on different Tea-Tree oils, *originating in Australia and new Zealand*, Ed., phytotherapy Research,American; **vol 14**: 623-629.

- **Madi A., 2010.** Caractérisation et comparaison du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire, Université Mentouri Constantine, 98 p.
- **Mann C.M., Cox S.D.J., Marham J.L., 2000.** The outer membrane of pseudomonas aeruginosa NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of Melaleuca alternifolia (Tea Tree Oil). *Journal of the essential oil of Melaleuca alternifolia* ;vol 33:249-497.
- **Mishara A.K., Dubey N.K. (1994).** Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (4):1101-1105.
- **Moris J.A., Khetry A.J, Setz E.W., 1979.** Antimicrobial of aroma chemical and essential oils. *Journal of essential oil.* vol 56: 595-603.
- **Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K., Someya T. 1985.** A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Ed., Dermatol. Res.*, 31-36.
- **Nicolas V. (1991).** Huiles essentielles: Production mondiale, échanges internationaux et évaluation des prix. 10^{ième} journée internationale des huiles essentielles. Actes, Ravista italiana Eppos ; numéro spécial 02/1992 : 534-539.
- **Ninomiya K., Maatsuda H., Shimoda H., (2004):** « Camosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage ». *Ed., Bioorg Med Chim. Lett, N°14:* 1943-1946.
- **Nikaido M., 2003.** Assainissement microbiologique de l'air et des systems de ventilation au moyen d'huiles essentielles. These Doctorat .Ecole polytechnique fédérale de lousanne.vol 3311,177 p.
- **Özkan M., 2006.** Karyotype Analis on two Endenic *Salvia L. (Lamiaceae) Specis en Turkey.* *International Journal of Botany, N° 2:* 333-335.
- **Özkan M., Özdemir C., Soy E., 2008.** Morphological, anatomical and Karyological properties of *Salvia cadmica (Lamiaceae), Journal of Botany; N° 18:* 361-371.
- **Padrini F., Lucheroni M.T., 1997.** Les huiles essentielles. Ed., De Vecchi S.A. Paris, 8 p.
- **Padrini F., Lucheroni M.T., 2003.** Le grand livre des huiles essentielles. Ed., De Vecchi S.A. Paris , 118 p.
- **Paris M., Hurabielle M., 1981.** Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie). Ed., Tome 1, Masson, Paris, 300 p
- **Paris R.R., Moyse H., (1971) :** « Matière médicinale ». Tome 3. Ed., Masson, Paris, 509 p.

- **Patricia P., 2014:** « Plantes médicinales ». Ed., Masson, Paris, 159 p.
- **Penna A.T ., Mretti M.D ., 2002 .** chemical composition and antinutritional action on the essential oils of *Salvia desoleana* and *sasclarea*. *Journal of food research report*, **vol 447:** 752-757.
- **Pibiri M.C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. *Thèse Doctorat*. Ed., Ecole polytechnique fédérale de Lausanne ,177 p
- **Pomerleau M.,Anunton R.,2006.**Plantes thérapeutique. Ed. Lavoisier .99p.
- **Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C., Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard. *Lebensm. –Wiss-Technol .J.SOC. Alger. Chim. Journal de la société Algérienne de chimie.*, **vol 25** : 679-684.
- **Rahal K., 2011.**Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale (Médecine humaine et vétérinaire.Document édité avec la collaboration de l'OMS .6^{ème} Edition.25-37p.
- **Rayaud J., 2006.** Prescription et conseils en aromathérapie. Ed. Lavoisier. Paris, 400 p.
- **Rombi M., Robert D., 2007.** « 120 plantes médicinales ». Ed., Alpem 09, avenue Albert II Mc- 98000 MONACO, 225-227.
- **Ross S.A., El-keltawi N.E. et Megalla S.E., 1980.** Antimicrobial activity of some Egyptian aromatic plants. *Journal of antimicrobial activity* ; **vol 51** : 201-205.
- **Rozman T., Jersek B., 2009.** Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) Against different species of *Listeria*. *Journal of Act an agriculture slovenica*, **vol : 93; N°1**, 56-58.
- **Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart A.T., Hotchkiss S.A., 2000.** Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, *cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol*. *Toxicol S.* Ed., Paris, 168-189.
- Soufit S.,Bennacer K.,2014.**Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, Mémoire de Master ;Université Abderrahmane Mira de Bejaia,44p.
- **Spichiger R.E, Murielefig Eat V.V.S., et Jeannouad D., (2004):** « Botanique Systématique des plantes à fleurs, une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropical ». 2^{ème} Ed., Press Polytechniques et Universitaire Romands, 325 p.

- **Tasson C.C ., Nychas G.J.E., 1995.** Antimicrobial activity of the essential oil of Mastic Gum (*Pistacia lentiscus* our choice) on Gram – bacteria in broth and in model food system. Ed., Society American. 420 p.
- **Tchamdja K.M. (1995).** Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle. Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques, ESTBA, UB., 95 p.
- **Teuscher E., Anton R. et Lobtein A., (2005) :** « Plantes aromatiques épices aromates, condiments et huiles essentielles. Ed., Lavoisier, Paris, 444 p.
- **Ultte A ., Bennit M.H.J ., Moezelaar R ., 2002 .** The phenolic hydroxyl group of carvacol is essential for action against the food borne pathogen *Bacillus cereus*. *Journal of food microbial*; vol 68:161 -168.
- **Valero M., S Almeron M.C., 2003.** Antimicrobial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology*; vol 85: 73-81.
- **Velichovic A., Ristic M., Velickovic D., Ilic S., Mitic N., 2003.** The possibilities of the application of some species of sage (*Salvia L*) as auxiliaries in the treatment of some diseases. *J.Serb.chem.Soc.* 68(6).435-445p.
- **Viaud H. (1993).** Thérapeutiques naturelles - GNOMA Ed. Paris, 80p.
- **Youssef R.T. et Trawill G.G., 1980.** Antimicrobial activity of essential oils. Ed. Paris, 400 p.
- **Zheng W., Wang S.Y., (2001):** «Antioxydant activity and phenolic compounds in selected herbs». *Journal of Agric Food Chem*; vol 49: 5165-5170.
- **Ziming W., Lan D., Tiechun L., Xin Z., Hanqi Z., Ying L., Zhihong L., Hongju W., Hong Z., Hui H., 2005.** *Journal of chromatography*, N°2; 11-17.
- **Anonyme (2007)** ^{12,13}. <http://fr.wikipedia.org/wiki/sauge.html>. Le 22 Mars 2007
- **Anonyme (2011)** ¹⁶. <http://www.eurekasante.fr/parapharmacie/phytotherapie-plantes/sauge-officinale-salvia-officinalis.html>. Le 14 Juin 2011
- **Anonyme (2012)** ^{3,4,5,6,7,8,9,10}. [http://www.surlechemindelavie.over-blog.com/pages/Procede D'extraction des essences naturelles-813294.html](http://www.surlechemindelavie.over-blog.com/pages/Procede_D'extraction_des_essences_naturelles-813294.html). Le 01 Septembre 2012
- **Anonyme (2013)** ¹¹. http://www.mathilde-lediuzet.fr/TPE/les_procedesd'extraction.php. Com. Le 12 Juin 2013
- **Anonyme (2013)** ¹⁵. <http://larodz.chez-alica.fr/plants/sauge.html>. Le 03 Mai 2013

- **Anonyme (2013)** ¹. http://www.inenuy.fr/huiles-essentielles-bio/392-huile_essentielle-de-sauge-10-ml-salvia-sclarea-purifiante.html. Le 15 Mars 2013
- **Anonyme (2014)** ². http://www.fr.wikipedia.org/wiki/Huile_essentielle. Com. Le 19 octobre 2014
- **Anonyme (2014)** ¹⁴. <http://www.Creapharma.ch/sauge.html>. Le 25 Janvier 2014

Préparations bio à base de Sauge

1. Tisane de Sauge (infusion de Sauge) gargarisme de Sauge Bain de pied à la Sauge (Anonyme., 2014)

1.2. Utilisation :

- Lors de maux de gorge (utilisation en gargarisme), de refroidissement

1.3. Ingrédients :

Pour une tasse de tisane de Sauge utilisez :

- ❖ 1,0à 1,5 gr (1 cuiller à café) de feuilles de Sauge
- ❖ Environ 200ml d'eau

1.4. Préparation :

- Chauffez l'eau à ébullition puis ajoutez cette eau bouillante aux feuilles de Sauge (de préférence de la Sauge séchée) ;

- Laissez infuser une dizaine de minutes (afin d'obtenir une dose efficace en substance actives).

1.5. Posologie :

Buvez une tasse plusieurs fois par jour en cas de refroidissement ou de mal de gorge (à utiliser aussi sous forme gargarisme, faits un gargarisme 3 fois par jour à base de tisane de Sauge).

Remarque :

- Tisane contre indiquée chez la femme enceinte.

- Eviter de consommer cette tisane sur une longue période (plusieurs mois).

2. Bain de pieds à base de Sauge :

Lors de transpiration excessive au niveau des pieds ou de pieds malodorants, il est possible d'utiliser cette tisane (préparez 1 L sous forme de bain de pieds, Faire trempez les pieds pendants vingtaine de minutes.

3. Teinture de la Sauge :

3.1 Utilisation :

Contre la transpiration excessive, bouffées de chaleur lors de la ménopause, problèmes de digestion, refroidissement, trouble digestifs, toux, bronchite.

3.2 Ingrédients :

- ❖ Feuilles séchées de *Sauge* (10 à 15 gr pour un bocal de 300ml environ).
- ❖ Eau de vie (de grain ou par exemple vodka).
- ❖ Bocal de 300 ml (avec un couvercle)
- ❖ Filtre à café
- ❖ Flacon teinté pour stocker la teinture.

3.3. Préparation :

- Remplissez dans un bocal jusqu'à un tiers de sa hauteur des feuilles séchées de Sauge ;
- Recouvrez d'eau de vie (exemple VodKa) les feuilles de *Sauge* ;
- Fermez bien le bocal ;
- Laissez tirer ce mélange pendant 2 à 3 semaines (vous noterez après un certain temps un changement dans la coloration de la teinture), mélangez de temps en temps ;
- Filtrez le mélange, par exemple à l'aide d'un filtre à café ;
- Remplissez ensuite cette teinture dans un flacon (brun foncé) pour conserver son efficacité.

3.4. Posologie :

Prenez 1 cuiller à café de ce mélange par exemple en cas de transpiration excessive. Pour une posologie plus personnalisée, demandez conseil de votre pharmacien.

4. Décoction de Sauge :

4.1. Utilisation :

En usage externe, par exemple sous forme de gargarisme lors de maux de gorge, d'aphtes ou de maux de dents ou en lotion à appliquer directement sur la peau lors de petits maux cutanés comme les dartres.

4.2. Ingrédients :

- ❖ 30gr de feuilles séchées de Sauge
- ❖ 300ml d'eau.

4.3. Préparation :

- Portez l'eau froide et la Sauge à ébullition dans une casserole ;
- Une fois l'ébullition atteinte, laissez encore bouillir une dizaine de minutes à température d'ébullition ;
- Laissez refroidir pendant 15 minutes ;
- Filtrez.

4.4. Posologie :

Faits des gargarismes plusieurs fois par jour, en cas de maux cutanés, appliquez aussi plusieurs fois par jour.

5. Bain de Sauge :

5.1. Utilisation :

Contre les rhumatismes

5.2. Ingrédients :

- ❖ 25g à 50g de feuille de Sauge
- ❖ 1 L d'eau

5.3. Préparation :

- Portez l'eau à ébullition puis ajoutez les feuilles de Sauge ;
- Laissez infuser un dizain de minutes ;
- Filtrez ;
- Ajoutez de mélange de bain.

5.4. Posologie :

Prenez un bain environ 15 minutes.

Résumé :

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles (HE) extraites des plantes aromatiques a été largement décrite *in vitro* dans plusieurs études. L'étude se veut une plaidoirie pour booster la culture d'une plante aromatique et médicinale, la Sauge (*Salvia officinalis*), largement répandue en Algérie. L'extraction de sa fraction aromatique offre de nouvelles perspectives en aromathérapie via la mise au point de nouvelles préparations galéniques à visée thérapeutique.

La première partie de ce travail consiste à extraire des huiles essentielles de la plante récoltée au niveau de la région de Boudjima, par hydro distillation juste après la floraison. Les résultats des analyses physico-chimiques donnent un rendement de 0,66%. Ces derniers sont bien en accord avec ceux des normes. AFNOR.

La deuxième partie de ce travail consiste à tester l'activité antimicrobienne et antifongique des HES de Sauge sur six souches bactériennes et une souche fongique, en utilisant la méthode d'aromatogramme améliorée et standardisée dans notre laboratoire.

Cette dernière montre que l'huile essentielle de la Sauge exerce une activité antimicrobienne remarquable, les bactéries gram positives sont plus sensibles à l'action des huiles que les bactéries gram négatives et la souche fongique.

En conclusion; Les huiles essentielles de la Sauge peuvent être considérés comme une base pour la mise au point d'une nouvelle génération très prometteuse d'agents antimicrobiens et antifongiques naturels pouvant être utilisés contre les infections rebelles aux agents antimicrobiens et antifongiques classiques.

Mots-Clés: *Salvia officinalis*, Région de Boudjima, Tizi Ouzou, Huile essentielle, Hydro-distillation, Activité antimicrobienne, Activité antifongique, Aromatogramme.

Summary:

The antimicrobial activity of essential oils (HE) extracted from aromatic plants has been widely described in vitro in several studies. The study is a plea to boost the cultivation of aromatic and medicinal plant, la Sauge (*Salvia officinalis*), widespread in Algeria. Extraction of its aromatic fraction offers new perspectives in aromatherapy via the development of new pharmaceutical preparations for therapeutic use.

The first part of this work is to extract essential oils from the plant harvested at the Boudjima region by hydro distillation just after flowering. The results of physicochemical analyze give a yield of 0,66% last .These is in agreement with those of normes.AFNOR.

The second part of this work is to test the antimicrobial and antifungal activity of HES sage six bacterial strains and a fungal strain, using the improved method aromatogramme standardized in our laboratory.

The latter shows that the essential oil of Sage has a remarkable antimicrobial activity, gram positive bacteria are more sensitive to the action of the oils that Gram negative bacterial and fungal strain.

In conclusion the essential oils of sage can be considered as a basis for the development of a promising new generation of natural antimicrobials and antifungal can be used against the rebel's infections with conventional antimicrobial and antifungal agents.

Keywords index: *Salvia officinalis*, area Boudjima, Tizi Ouzou, essential oil, steam distillation, Antimicrobial activity, antifungal activity, Aromatogram.