

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°: .....



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : MICRPBIOLOGIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention  
Du diplôme de Master Académique**

Par:

BENSLIMANE Ahlem

BENSAID Amira

DENIDENI Selma Omima

**Intitulé**

**Etude de l'effet antibactérien de quelques extraits de  
*Matricaria chamomilla* L.**

Soutenu devant le jury composé de

**BENCHEIKH Dalila**

**MCA**

**Présidente**

**HENDEL Noui**

**MCA**

**Encadreur**

**BOUBEKEUR Hafsa**

**MCA**

**Examinatrice**

*Année universitaire : 2022 /2023*

# Dédicace

*C'est avec l'aide et la grâce d'ALLAH que j'ai achevé ce modeste travail que je dédie :*

*À mes parents, pour leur encouragement et toute l'aide qu'ils m'ont apporté durant mes études.*

*À ma chère sœur : Zaineb*

*À mes adorables frères : Akram, Islem.*

*À mes collègues Amira et Ahlem pour leur patience et leur compréhension tout au long de ce projet.*

*À mes amies et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

***SELMA***

# Dédicace

*A l'aide d'ALLAH le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*A Mon chère **papa** qui m'a toujours soutenu dans ma vie et pour son amour, sacrifice, soutien et patience durant toute ma vie. Trouvez dans ce travail accompli, tous le respect et l'amour que je vous porte.*

*A Ma chère **mère** ALLAH yarhamha, qui a toujours consenti pour moi les plus durs sacrifices. Et malgré ton absence d'avec moi, tu es en moi, je n'oublierai jamais ton soutien pour moi à chaque étape de ma vie.*

*A mes chers **frères** : Houssam et Abdelmalek*

*A mes chères **sœurs** : Ines et Lina*

*Et toute la famille*

*À mes amis et mes collègues*

*A tous ceux qui tiennent une place dans mon cœur, avec lesquels je partage les mots tendresse, amour et amitié.*

**AMIRA**

# Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier ALLAH, de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travail à :

Maman, tu as été la lumière de ma vie. Tu as toujours été là pour moi et tu as célébré chaque succès à mes côtés. Tu resteras à jamais dans mon cœur *رحمك الله*.

A mon père, autant de phrases et d'expressions aussi éloquents soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et du courage en face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A mes trois frères que j'aime : Soufiane Marouane Anis.

A ma meilleure amie qui était là pour moi bamz

A Mes chères Henifa Dalila Iliz Wassim, Hanane.

A toute ma famille.

A Mes amies et mes collègues.

Ahlem

# Remerciements

*Tous d'abord, nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent à ALLAH le tout puissant qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui, et nous avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.*

*Ensuite, nos remerciements vont à notre promoteur **Dr HENDEL Noui** qui nous a guidé dans notre travail, merci pour nous avoir accordé son temps, merci d'avoir été très patient avec nous.*

*Nous remercions chaleureusement les membres du jury, **M<sup>me</sup> Dr BENCHEIKH Dalila** et **M<sup>me</sup> Dr BOUBEKEUR Hafsa**, qui ont accepté de juger notre travail.*

*Nous remercions également tous les membres des laboratoires de Microbiologie et biochimie à l'université de M'sila.*

*En fin, nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à tous ceux qui ont manifesté leur soutien de près ou de loin dans la réalisation de notre travail.*

*Merci à Tous*

---

# Sommaire

Dédicaces

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1.	Généralités sur les plantes médicinales .....	2
1.1.	Définition des plantes médicinales .....	2
1.2.	Principes actifs des plantes médicinales .....	2
1.3.	Usage des plantes médicinales .....	2
1.3.1.	En médecine .....	2
1.3.2.	En cosmétologie .....	3
1.3.3.	En alimentation .....	3
1.3.4.	En agriculture .....	3
1.4.	Caractéristiques des plantes médicinales .....	3
1.5.	Les bactéries .....	4
1.5.1.	Culture des bactéries .....	4
1.5.2.	Infections bactériennes et antibiotiques .....	4
1.6.	Activité antimicrobienne .....	5
1.6.1.	Activité antibactérienne .....	5
1.6.1.1.	Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne .....	6
1.6.1.2.	Méthode des disques .....	6
1.6.1.3.	Méthode des puits .....	6
1.6.1.4.	CMI et CMB .....	6
1.6.2.	Mécanismes de l'activité antifongique .....	7
1.6.2.1.	Altération de la structure de la paroi fongique .....	7
1.7.	Généralités sur les matricaires .....	7
1.7.1.	Répartition géographique .....	7
1.7.2.	Description botanique .....	7
1.7.3.	Usages traditionnels .....	8
1.7.4.	Systématique .....	8

## PARTIE PRATIQUE : MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.	Matériel et Méthodes .....	9
1.1.	Matériel végétal .....	9
1.2.	Broyage de la plante .....	9
1.3.	Procédés d'extraction .....	9
1.3.1.	Extraction par macération (par le Méthanol et l'Acétate d'éthyle) .....	9
1.3.2.	Extraction par décoction .....	10
1.3.3.	Calcul du rendement .....	11
1.4.	Activité antibactérienne .....	11
1.4.1.	Bactéries testés .....	11
1.4.2.	Tests confirmatifs de la pureté des souches .....	11
1.4.3.	Préparation des solutions d'extraits .....	11
1.4.4.	Préparation de l'inoculum .....	12

---

---

1.4.4.1.	Ensemencement.....	12
1.5.	Techniques appliquées .....	13
1.5.1.	Méthode des disques de diffusion .....	13
1.5.2.	Méthode des puits de diffusion .....	13
1.5.3.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	14
1.6.	Analyse statistique.....	15

#### PARTIE PRATIQUE : RESULTATS ET DISCUSSION

1.	Résultats et discussion.....	16
1.1.	Rendement en extraits de la plante.....	16
1.2.	Activité antibactérienne.....	16
1.2.1	Méthode des disques .....	16
1.2.2.	Méthode de diffusion des puits .....	17
1.2.3.	Résultats de la Détermination CMI et CMB .....	18

Conclusion.....	21
-----------------	----

#### REFERENCES : BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

Annexes

---

---

## Résumé

*Matricaria chamomilla* est une plante médicinale appartenant à la famille des Composées. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle contre diverses affections cutanées et son huile essentielle est également utilisée comme agent antirhumatismal. Le but de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits préparés à partir des parties aériennes de cette plante. L'extraction par décoction aqueuse a donné le rendement le plus élevé (25%). L'extraction par macération au méthanol a donné un rendement de 15,2%, et a donné 3,8% par l'acétate d'éthyle. L'activité antibactérienne de la plante (extraits) a été vérifiée en utilisant sept (7) souches dont des Gram+ et des Gram-. La technique des puits de diffusion a permis de qualifier la sensibilité des bactéries étudiées de sensibles à l'ensemble des extraits testés (ZI varie de 8,55 à 14,75 mm). Les CMI ont été déterminées et varient entre 7,43 à 62,5 mg/ml pour l'extrait méthanolique, de 125 et 250 mg/ml pour les extraits acétate d'éthyle et aqueux respectivement ; les CMB varient de 31.5 à 125 mg/ml pour l'extrait méthanolique, de 250 et plus de 250 mg/ml pour les extraits acétate d'éthyle et aqueux respectivement. Les bactéries les plus sensibles sont *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

**Mots clés** - *Matricaria chamomilla*, Composées, activité antibactérienne, extrait méthanolique, extrait aqueux.

---

---

## Abstract

*Matricaria chamomilla* is a medicinal plant belonging to the Compositae family. It is widely used in traditional medicine against various skin conditions and its essential oil is also used as an antirheumatic agent. The aim of this work was to evaluate the antibacterial activity of extracts prepared from the aerial parts of this plant. Extraction by aqueous decoction gave the highest yield (25%). Extraction by maceration with methanol gave a yield of 15.2%, and gave 3.8% with ethyl acetate. The antibacterial activity of the plant (extracts) was verified using seven (7) strains including Gram<sup>+</sup> and Gram<sup>-</sup>. The wells diffusion technique allowed to qualify the sensitivity of the bacteria studied as sensitive to all the extracts tested (ZI varies from 8.55 to 14.75 mm). The MICs have been determined and vary between 7.43 to 62.5 mg/ml for the methanolic extract, from 125 and 250 mg/ml for the ethyl acetate and aqueous extracts respectively; the MBCs vary from 31.5 to 125 mg/ml for the methanolic extract, from 250 and more than 250 g/ml for the ethyl acetate and aqueous extracts respectively. The most sensitive bacteria were *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

**Key words** - *Matricaria chamomilla*, Compositae, antibacterial activity, methanolic extract, aqueous extract.

---

## ملخص

الماتريكاريا "البابونج" *Matricaria chamomilla* هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة Compositae . يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي ضد الأمراض الجلدية المختلفة، كما يستخدم زيتة الأساسي كعامل مضاد للروماتيزم. كان الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المحضرة من الأجزاء الهوائية لهذا النبات. أعطى المستخلص المائي بالغلي أعلى مردود (25٪). أعطى الاستخلاص بالنقع بالميثانول مردوداً قدره 15.2٪ ، وأعطى 3.8٪ مع خللات الإيثيل. تم التحقق من الفعالية المضادة للبكتيريا للنبات (المستخلصات) باستخدام سبع (7) سلالات متضمنة Gram + و Gram- . سمحت تقنية آبار الانتشار بتأهيل حساسية البكتيريا المدروسة على أنها حساسة لجميع المستخلصات المختبرة (يتراوح قطر هالة التثبيط من 8.55 إلى 14.75 مم). تم تحديد قيم الـ MIC وتفاوتت ما بين 7.43 إلى 62.5 مجم / مل للمستخلص الميثانولي ، من 125 و 250 مجم / مل لمستخلص خللات الإيثيل والمستخلصات المائية على التوالي ؛ تفاوتت قيم الـ MBC من 31.5 إلى 125 مجم / مل للمستخلص الميثانولي ، من 250 وأكثر من 250 جم / مل لمستخلص خللات الإيثيل والمستخلص المائي على التوالي. كانت البكتيريا الأكثر حساسية هي *Enterococcus faecalis* و *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas aeruginosa*.

**الكلمات المفتاحية – *Matricaria chamomilla* ، Compositae** ، النشاط المضاد للميكروبات ، المستخلص الميثانولي ، المستخلص المائي.

## Liste des abréviations

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

MRSA : Méricilline résistant *Staphylococcus aureus*.

EAE : Extrait acétate d'éthyle.

EM : Extrait méthanolique.

EA : Extrait aqueux.

GN : Gélose nutritive

BN : Couillon nutritif

ATCC : American Type Culture Collection

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Matricaria chamomilla L. poussant au campus du pôle de l'université de m'sila. ....	9
<b>Figure 2.</b> Le matériel végétal broyé de <i>M. chamomilla</i> .....	9
<b>Figure 3.</b> Les différentes étapes de l'extraction par macération.....	10
<b>Figure 4.</b> Les différentes étapes de l'extraction par décoction.....	10
<b>Figure 5.</b> Préparation de l'inoculum microbien McFarland 0.5.....	12
<b>Figure 6.</b> . Schéma représentant la technique des disques / puits de diffusion appliquée.....	13

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Rendement d'extraction.....	16
<b>Tableau 2.</b> Diamètres des Zones d'inhibition illustrant l'activité antibactérienne des extraits EM, EM et EAE (600mg/ml) *.....	17
<b>Tableau 3.</b> Diamètres des Zones d'inhibition des souches testés vis-à-vis des antibiotiques.....	17
<b>Tableau 4.</b> Résultats des CMI et CMB de extraits EM, EA et EAE de <i>M. chamomilla</i> .....	19
<b>Tableau 5.</b> L'effet bactériostatique/bactéricidedes extraits EM et EAE <i>M. chamomilla</i> .....	20

# INTRODUCTION

## **Introduction**

Les plantes sont à la base de systèmes sophistiqués de médecine traditionnelle qui existent depuis des milliers d'années et continuent de fournir à l'humanité de nouveaux remèdes. L'homme a pris conscience des capacités thérapeutiques des plantes de son environnement il y a environ 3000 ans.

La découverte des antibiotiques a constitué un progrès médical extraordinaire. Cependant, une résistance à ces produits s'est rapidement développée et a évolué jusqu'à constituer un problème de santé important à l'échelle mondiale. C'est pourquoi une grande attention a été accordée aux extraits bruts de plantes, qui commencent à susciter la curiosité des gens en tant que source potentielle de composés bioactifs naturels.

A cet effet, nous nous sommes intéressés l'étude de l'activité antibactérienne *Matricaria chamomilla* L., une espèce de la famille des composées (Astéracées) qui constitue la plus vaste subdivision du règne végétal.

Ce travail est composé de deux parties ; une partie bibliographique traitant des généralités sur les plantes médicinales et leur utilisation dans la vie quotidienne de l'homme, leurs caractères thérapeutiques, puis une description générale du genre *Matricaria* ; et une partie expérimentale qui consiste en l'application de techniques d'étude de l'activité antibactérienne de la plante *Matricaria chamomilla* L., à savoir la préparation d'extraits par décoction et macération, et l'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces extraits vis-à-vis de sept souches microbiennes.

Le travail est achevé par une conclusion.

# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

## **1. Généralités sur les plantes médicinales**

### **1.1. Définition des plantes médicinales**

Le terme "plantes médicinales" fait référence à une variété d'espèces végétales utilisées en herboristerie, dont certaines ont des propriétés médicinales. Ces plantes sont considérées comme une riche source de composants pour la création et la synthèse de médicaments. Elles sont également essentielles au développement des cultures humaines dans le monde entier. En outre, certaines plantes sont considérées comme des sources importantes de nutrition et, par conséquent, sont suggérées pour leurs bienfaits médicaux. Ces plantes comprennent les noix, le gingembre, le thé vert et quelques autres., D'autres plantes et leurs dérivés sont considérés comme des sources d'huiles essentielles et de composés actifs utilisés dans l'aspirine et la dentifrice (Rasool, 2012).

Une plante médicinale est toute plante qui contiennent un ou plusieurs composés pouvant être utilisé à des fins médicinales ou qui est un précurseur dans la production de produits pharmaceutiques efficaces (Abayomi, 2010).

### **1.2. Principes actifs des plantes médicinales**

Les effets pharmacologiques de tout échantillon de plante sont dus aux métabolites primaires, aux métabolites secondaires et aux produits de sécrétion présents dans l'échantillon. Les produits chimiques phénoliques, les alcaloïdes, les tanins, les saponines, les sucres, les glycosides, les flavonoïdes et les stéroïdes en sont les types les plus courants (Mradu *et al.*, 2012).

### **1.3. Usage des plantes médicinales**

#### **1.3.1. En médecine**

La médecine traditionnelle est pratiquée dans le monde entier et son importance économique s'accroît rapidement, en grande partie grâce à l'utilisation de plantes médicinales, qui jouissent aujourd'hui d'une réputation respectable, en particulier dans les pays en développement, où l'accès aux soins de santé modernes est très limité. L'Organisation mondiale de la santé (OMS, 1999) signale que, selon les estimations actuelles, une part importante de la population de nombreux pays riches pratique encore la médecine traditionnelle, en particulier l'utilisation de plantes médicinales. Bien que ces pays aient accès à des traitements modernes, l'utilisation de plantes thérapeutiques est restée populaire pour des raisons historiques et culturelles (Agra *et al.*, 2008).

Les plantes médicinales sont largement utilisées comme matières premières pour extraire les composants actifs qui sont ensuite utilisés pour synthétiser divers médicaments. Les laxatifs, les

anticoagulants, les antibiotiques et les antipaludéens contiennent tous des composants d'origine végétale (Rasool, 2012).

### 1.3.2. En cosmétologie

Les plantes contribuent à préserver et à accroître la beauté et le caractère unique de l'homme. Il existe 65 espèces connues de plantes médicinales qui sont utilisées pour soigner les affections cutanées et fabriquer des cosmétiques traditionnels (Abbasi *et al.*, 2010).

### 1.3.3. En alimentation

Les épices forment une composante essentielle de la cuisine humaine ; des substances, telles que les phénols et les flavonoïdes, ont récemment été trouvées dans les légumes et les épices, en plus des fibres alimentaires et des vitamines, et elles pourraient avoir des effets bénéfiques sur la santé (Bouba, 2009).

### 1.3.4. En agriculture

L'une des plantes médicinales les plus importantes du Bangladesh est l'arbre *Azadirachta indica*, qui pousse dans tout le sous-continent indien et a une circonférence de 1,8 à 2,4 mètres. Sa circonférence est de 1,8 à 2,4 mètres et sa hauteur varie de 12 à 18 mètres. Les huiles de cet arbre sont utiles pour l'agriculture et la lutte contre de nombreux insectes nématodes (vers parasites) (Mehani, 2015).

## 1.4. Caractéristiques des plantes médicinales

Lorsqu'elles sont utilisées comme remède, les plantes médicinales présentent de nombreuses qualités, dont les suivantes :

- Médecine synergique : Les éléments constitutifs des plantes interagissent simultanément, ce qui permet à leurs applications de compléter, de nuire ou même de contrecarrer les effets d'autres utilisations.
- Les composants des plantes se sont révélés très utiles dans le traitement de cas complexes tels que les troubles cancéreux.
- Il a été établi que certains composants végétaux se caractérisent également par leur capacité à retarder l'apparition de certaines maladies. Cela permet d'atténuer les effets néfastes des traitements synthétiques en réduisant l'utilisation de thérapies chimiques qui sont utilisées lorsque la maladie est déjà présente (Rasool.,2012).

## 1.5. Les bactéries

Les bactéries sont des cellules procaryotes dont l'ADN n'est pas localisé dans un noyau. Beaucoup contiennent des structures circulaires d'ADN extra chromosomique appelées plasmides. Il n'y a pas d'organites autres que les ribosomes dans le cytoplasme. Plus petites que les cellules eucaryotes, les bactéries, à l'exception des mycoplasmes, sont entourées de parois complexes qui diffèrent selon qu'elles sont à Gram positif ou à Gram négatif (Hart et Shears, 1997).

Les polymères d'acide téichoïque sont reliés à la couche de peptidoglycane, qui constitue la quasi-totalité de la paroi des bactéries Gram-positives. La paroi des bactéries à Gram négatif est plus complexe. Par rapport aux bactéries à Gram positif, la couche de peptidoglycane est plus fine et elle est entourée d'une membrane externe composée de lipopolysaccharides et de lipoprotéines. Les molécules d'endotoxine (lipide A) sont présentes dans la partie lipopolysaccharide de la paroi des bactéries Gram négatives et sont impliquées dans la pathogénicité bactérienne (Hart et Shears, 1997).

### 1.5.1. Culture des bactéries

Les bactéries sont généralement cultivées sur des milieux élaborés à base d'hydrolysats enzymatiques de viande ou d'extraits de viande. Ces milieux peuvent être solides (exp. gélose nutritive) ou liquides (exp. Bouillon nutritif).

Les bactéries peuvent se déplacer librement dans un milieu liquide et leur prolifération produit un trouble, généralement homogène. Lorsque peu de bactéries sont présentes sur un substrat solide, chacune d'entre elles peut proliférer instantanément jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, appelé colonie (Nauciel et Vildé, 2005).

### 1.5.2. Infections bactériennes et antibiotiques

Les infections sont causées par différents types de microorganismes qui sont des agents pathogènes tels que les bactéries, les virus, parasites ou champignons. Ces infections ont causé des millions de morts depuis des années dans le monde entier, en particulier dans les pays en développement.

La découverte des antibiotiques a conduit à réduire considérablement les infections causées par différents microorganismes. L'incroyable efficacité de ces antibiotiques étaient accompagnés d'un usage massif et abusif qui a entraîné l'apparition de la résistance bactérienne (Ganfon *et al.*, 2019).

Un antibiotique est un agent antibactérien d'origine biologique (champignons et bactéries), ou d'origine chimique, capable de stopper la croissance ou d'éradiquer d'autres microorganismes.

Par exemple : le champignon *Penicillium notatum* produit la pénicilline ; le chloramphénicol est un antibiotique produit chimiquement.

Les antibiotiques sont définis par leur action antimicrobienne ou spectre d'activité qui distingue les antibiotiques, leur mode d'action, leur activité des milieux organiques, et leur diffusion et absorption dans l'organisme (Yala *et al.*, 2001).

## 1.6. Activité antimicrobienne

Avant que l'homme ne découvre l'existence des microbes, prévalait l'idée que certaines plantes possédaient des pouvoirs curatifs ou contenaient ce qu'on appelle aujourd'hui des principes antimicrobiens. Depuis l'Antiquité, les humains utilisent les plantes pour traiter les infections courantes. Certains de ces remèdes traditionnels font encore partie du traitement régulier de diverses affections. Le traitement des infections par exemples des voies respiratoires est décrit dans divers manuels de phytothérapie, mais la mélisse (*Melissa officinalis*), l'ail (*Allium sativum*) et l'arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*) sont décrits comme antibiotiques à large spectre (Rios et Recio, 2005).

Les plantes sont au cœur des médicaments traditionnels utilisés par exemple pour traiter les infections locales et systémiques causées par des micro-organismes (exp. cicatrisation des plaies). La plante a été préparée comme médicament à base de plantes ou comme extrait peut avoir des propriétés antibactériennes (Heinrich *et al.*, 2017).

L'augmentation du nombre de microorganismes résistants aux antibiotiques a donné un élan supplémentaire à la recherche de nouveaux composés antibactériens. Les polyphénols d'origine végétale ont montré une activité antibactérienne. Un nombre d'entre eux sont également connus pour leurs effets synergiques avec les médicaments antimicrobiens existants (Ncube *et al.*, 2008).

Dans la littérature, il est courant de voir l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne rapportées simultanément, en particulier lorsque le fractionnement guidé par la bioactivité est impliqué (Tan et Lim, 2015).

### 1.6.1. Activité antibactérienne

Tout matériau utilisé pour éliminer les microbes ou arrêter leur croissance est appelé "agent antimicrobien", y compris les agents antibactériens. Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis de nombreuses années pour traiter les maladies contagieuses et arrêter les infections. Lorsqu'un agent antimicrobien empêche les bactéries de se multiplier, il est dit bactériostatique ; et lorsqu'il éradique totalement les bactéries, on dit qu'il est bactéricide (Sablonnière, 2006).

### **1.6.1.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne**

#### **1.6.1.2. Méthode des disques**

Un disque imprégné d'antibiotique est placé sur un tapis de gélose où la suspension bactérienne a été préalablement étalée. L'antibiotique se diffuse uniformément dans la gélose, de sorte que sa concentration est inversée proportionnellement à la distance autour du disque. Après 18-24 h d'incubation, la croissance bactérienne est observée sur toute la surface de la gélose, excepté dans des zones circulaires autour du disque d'antibiotique ; ce sont les zones d'inhibition à diamètre mesurable. Plus la zone d'inhibition est grande, et plus la bactérie testée est sensible (Monier, 2017).

#### **1.6.1.3. Méthode des puits**

Le principe de cette méthode est similaire à celui de la méthode des disques : il consiste à réaliser des puits dans la gélose de 2.5 mm de profondeur, qui sont par la suite remplis d'extraits ou d'antibiotique à tester (Clarke, 2004).

#### **1.6.1.4. CMI et CMB**

Dans les méthodes de concentration minimale inhibitrice (CMI), on détermine la sensibilité des organismes à des dilutions en séries d'agents dans la gélose ou le bouillon. Les tests quantitatifs déterminent la CMI, qui est définie comme la concentration la plus faible de l'agent qui empêche une population microbienne de se développer. La concentration bactéricide minimale (CMB) est la concentration la plus faible qui tue 99,9 % de la population. Dans les laboratoires cliniques, les méthodes CMI sont utilisées pour tester la sensibilité des organismes qui donnent des résultats équivoques dans les tests de diffusion, pour les tests sur des organismes pour lesquels les tests sur disque peuvent ne pas être fiables, comme pour les organismes à croissance lente, ou lorsqu'un résultat plus précis est nécessaire pour la prise en charge clinique. Les méthodes de CMI sont acceptées comme la norme par rapport à laquelle les autres méthodes sont évaluées et pour tester de nouveaux agents. Les CMI peuvent également être dérivées de la taille de la zone d'inhibition dans les tests de diffusion en utilisant une courbe de régression produite en traçant le diamètre de la zone d'inhibition en fonction de la CMI d'une série de souches d'une espèce donnée. Dans certains cas, il est nécessaire de connaître la CMB d'un organisme. Celle-ci est déterminée en sous-culturant le bouillon des tubes ne présentant pas de turbidité lors d'un test de CMI sur un milieu exempt d'agent antimicrobien et en observant la croissance après une nouvelle incubation (Corry, 2004).

## 1.6.2. Mécanismes de l'activités antifongique

### 1.6.2.1. Altération de la structure de la paroi fongique

La paroi cellulaire fongique a une structure rigide constituée de polysaccharides. Le (1,3)- $\beta$ -D-glucane est le composant majeur de la paroi fongique. L'inhibition de ce dernier perturbe l'intégrité de la paroi cellulaire (Bernard et Latge, 2001).

Certaines substances antifongiques empêchent la synthèse de l'ergostérol en inhibant la déméthylation (14-déméthylase) du lanostérol ou en interagissant directement avec l'ergostérol, ce qui affecte la structure de la membrane lipidique et augmente sa perméabilité. La création de pores aqueux par lesquels le matériel cytoplasmique vital pénètre, éliminant ainsi le gradient de protons qui pourrait autrement conduire à la mort de la cellule (Biabiany, 2011).

La croissance des champignons peut être empêchée par l'inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale, agir sur les microtubules impliqués dans la division cellulaire (métaphase), ou inhibition de la production d'acides nucléiques (ADN, ARN) et, par conséquent, de la production de protéines (Brans, 2015).

## 1.7. Généralités sur les matricaires

Le genre *Matricaria* appartient à la famille des *Asteraceae* (ou *Compositae*). Les plantes ayant pour nom de genre *Chamomilla* sont aujourd'hui au sein du genre *Matricaria*. Par contre, les plantes nommées « Camomille » en français n'ont pas à voir avec ce genre. Seule *Matricaria recutita* (également connue sous le nom de *Matricaria chamomilla*) peut être nommée « Camomille sauvage » en raison de sa ressemblance avec les plantes cultivées et des usages similaires (Gherboudj, 2014).

### 1.7.1. Répartition géographique

Le genre *Matricaria* comporte une trentaine d'espèces principalement des régions tempérées d'Europe, d'Amérique, d'Asie et d'Afrique, dont quelques espèces naturalisées en Australie (Gherboudj, 2014).

### 1.7.2. Description botanique

Les matricaires sont des plantes annuelles de 50 cm à 1,5 m de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, sessiles, épaisses, charnues, sont très divisées, en lanières. Les fleurs, jaunes au centre, blanches à la circonférence, très odorantes, sont groupées en capitules solitaires au sommet des rameaux. Le fruit est très petit, blanc jaunâtre, légèrement arqué (Gherboudj, 2014).

### 1.7.3. Usages traditionnels

La médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques à la Matricaire (Chamomille allemande) qui ont été souvent discutées. Parmi les principales propriétés, il y avait l'usage en tant qu'antispasmodique, fébrifuge, antispastique des organes de la digestion, emménagogue, antinévralgique, antiallergique et bactéricide. En usage externe, la matricaire est un anti-inflammatoire, un cicatrisant de la peau et des muqueuses. Elle est prescrite contre les inflammations de la bouche, des oreilles, des yeux et contre diverses affections cutanées. L'huile essentielle est également utilisée comme agent antirhumatismal (Benkiki, 2006).

La matricaire est couramment employée dans les préparations capillaires destinées à éclaircir la nuance des cheveux dont elle stimulerait aussi la croissance. C'est la plante la plus utilisée en cosmétologie où elle se montrerait émollissante, adoucissante, protectrice (Benkiki, 2006).

### 1.7.4. Systématique

La classification botanique de cette plante est décrite comme suit (Makhloufi, 2010) :

- **Embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous-classe** : Gamopétales
- **Ordre** : Astérales
- **Famille** : Compositae
- **Genre** : *Matricaria*.
- **Espèce** : *Matricaria chamomilla*

PARTIE PRATIQUE : MATÉRIELS  
ET MÉTHODES

## 1. Matériel et Méthodes

La partie expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires de microbiologie et biochimie, université Mohamed Boudiaf de M'sila. Elle consiste à la préparation des extraits de *Matricaria chamomilla*, la préparation et la purification de souches bactériennes disponibles au niveau du laboratoire de microbiologie, et application des tests d'activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries vérifiées.

### 1.1. Matériel végétal

La plante (*Matricaria chamomilla* L.) poussant à l'état spontané a été récoltée au mois de Mars 2022 au niveau du campus du pôle universitaire de M'sila auprès du département des sciences de la nature et de la vie (Figure 1). Après être séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré, les parties aériennes (feuilles et fleurs) sont récupérées dans des sacs de papier propres puis conservées jusqu'à utilisation.

### 1.2. Broyage de la plante

Le matériel végétal a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique. Le procédé de broyage se fait toujours juste avant le procédé d'extraction (Figure 2).



**Figure 1.** *Matricaria chamomilla* L. poussant au campus du pôle de l'université de m'sila.



**Figure 2.** Le matériel végétal broyé de *M. chamomilla*.

### 1.3. Procédés d'extraction

#### 1.3.1. Extraction par macération (par le Méthanol et l'Acétate d'éthyle)

Les extraits méthanolique (EM) et d'acétate d'éthyle (EAE) ont été obtenus par macération ; 500 ml de méthanol ou d'acétate d'éthyle ont été ajoutés à 50 g des parties aériennes broyées de la plante d'étude et le mélange a été maintenu sous agitation pendant 24 h à température ambiante.

L'extrait a été filtré à travers du papier Whatman, puis concentré sous vide à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Figure 3 ). Après séchage dans une étuve (40 °C), l'extrait sec a été récupéré, pesé et conservé à 4 °C jusqu'à son utilisation. Le rendement en extrait est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante et est calculé par la formule suivante (Atere *et al.*, 2018):

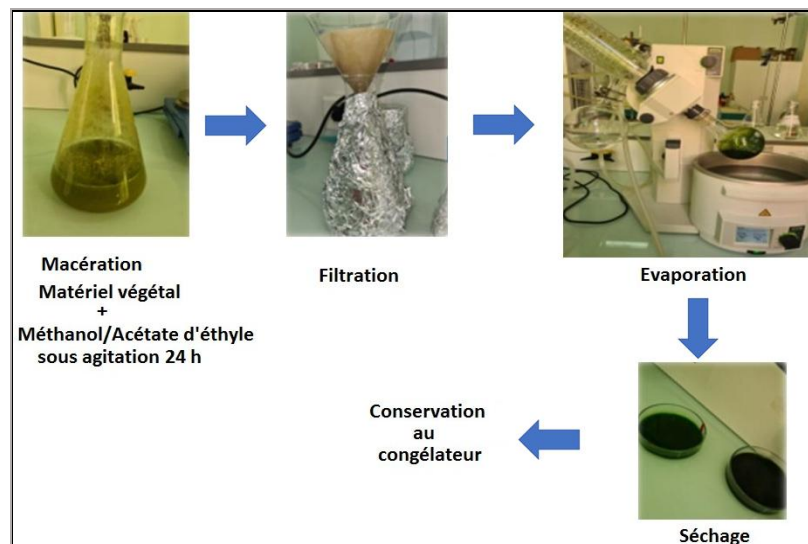


Figure 3. Les différentes étapes de l'extraction par macération.

### 1.3.2. Extraction par décoction

L'extrait aqueux (EA) de la plante a été obtenu par décoction ; 20 g de plante en poudre ont été ajoutés à 200 ml d'eau distillée, puis portés à ébullition avec agitation pendant 30 minutes. Le décocté a été filtré à l'aide de papier filtre Whatman (Figure 4). L'extrait aqueux a été concentré par séchage dans une étuve à 40 °C, puis recueilli et stocké à 4 °C à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation (Akassa *et al.*, 2019).

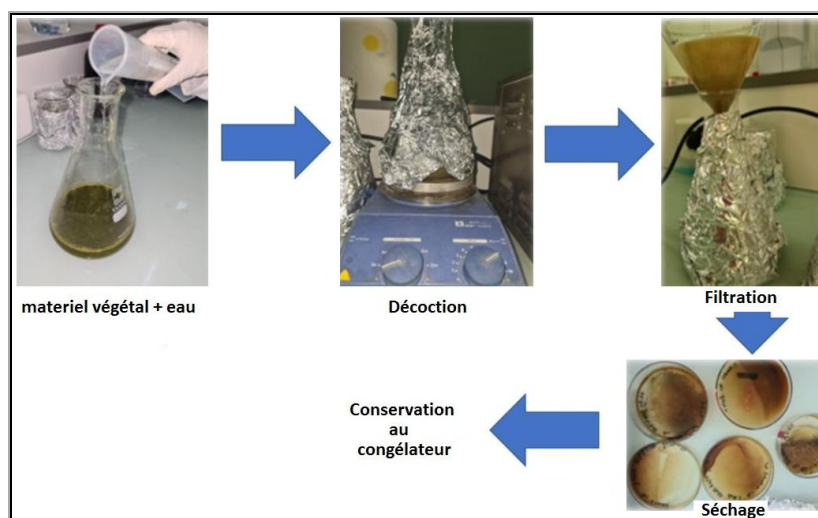


Figure 4. Les différentes étapes de l'extraction par décoction.

### 1.3.3. Calcul du rendement

Le rendement en extrait est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante et est calculé par la formule :

$$\text{Rendement (R)\%} = \frac{M_{\text{Ext}}}{M_{\text{Ech}}} \times 100$$

Où

$M_{\text{Ext}}$ : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

$M_{\text{Ech}}$ : Masse de l'échantillon végétal en g.

## 1.4. Activité antibactérienne

### 1.4.1. Bactéries testés

Les bactéries soumises à l'action des extraits EM, EAE et EA de *M. chamomilla* sont des bactéries de référence disponibles au niveau de laboratoire de microbiologie du département de Microbiologie et Biochimie : MRSA (Méthicillin résistant *Staphylococcus aureus*); *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ; *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 ; *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 ; *Klebsiella Pneumoniae* ATCC 700603 ; *Bacillus subtilis* ATCC9372.

### 1.4.2. Tests confirmatifs de la pureté des souches

Nous avons tenu à vérifier leur pureté. Après ensemencement de bactéries sur la gélose nutritive, la coloration de Gram a été réalisée après 24 heures d'incubation à 37°C, ce qui a permis ainsi l'observation de la forme des cellules bactériennes et de leur mode de regroupement.

La pureté des bactéries a été vérifiée par le repiquage successif à partir des cultures inclinées stockées au laboratoire.

- Une revivification par ensemencement dans le bouillon nutritif pendant 24 heures à 37 °C.
- Ensemencement par stries sur gélose nutritive pendant 24 heures à 37 °C.
- Examen macroscopique basé sur les critères morphologiques tels que l'aspect des colonies, leur couleur et les odeurs particulières.
- Examen microscopique après la réalisation de la coloration de Gram.

### 1.4.3. Préparation des solutions d'extraits

Les solutions des extraits EA, EM et EAE, aux concentrations souhaitées, ont été préparées par la dissolution de l'extrait sec dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) pour les tests de disques et les puits de diffusion.

Pour les tests de la détermination des CMI et CMB, les extraits ont été dissouts dans le bouillon nutritif (BN) au DMSO (2% v/v).

#### 1.4.4. Préparation de l'inoculum

Les bactéries ont été ensemencées dans un bouillon nutritif et incubées à 37 °C pour 24 h. Elles sont ensuite ensemencées, par stries, sur la gélose nutritive et incubées à 37 °C pendant 24h. A l'aide d'une anse de platine, quelques colonies, bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester, sont prélevées et puis introduites dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Après agitation, l'inoculum a été ajusté à une turbidité standard de 0.5 McFarland, ce qui correspond à une densité optique de 0.08-0.13 à une longueur d'onde de 620 nm. La concentration finale de l'inoculum est approximativement de l'ordre de  $10^8$  ufc/ml (Figure 5).

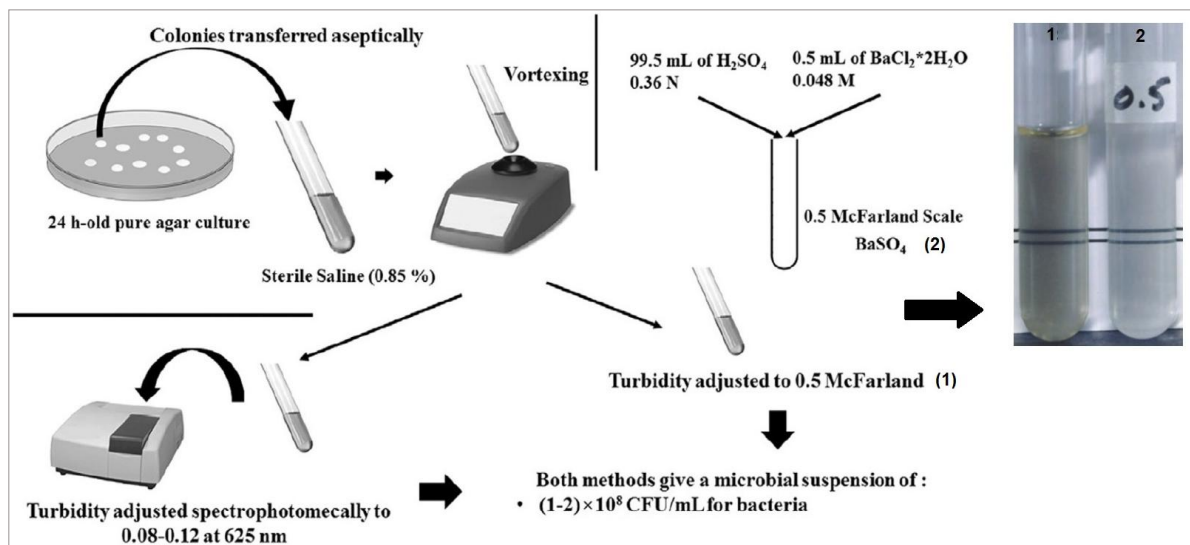


Figure 5. Préparation de l'inoculum microbien McFarland 0.5 (Balouiri et al., 2016).

##### 1.4.4.1. Ensemencement

L'ensemencement a été effectué directement à partir de la dilution obtenue (0.5 McFarland) à l'aide d'un écouvillon stérile immergé dans la suspension bactérienne. L'étalement a été réalisé par stries serrées à trois reprises sur la surface entière de la gélose, en tournant la boîte à environ 60°, après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum.

## 1.5. Techniques appliquées

### 1.5.1. Méthode des disques de diffusion

L'effet des extraits EA, EM et EAE sur de la croissance bactérienne a été déterminé par la méthode des disques de diffusion sur gélose nutritive (GN). Le milieu GN coulé en boîtes de Pétri (90mm) estensemencé par écouvillonnage de suspension bactérienne de  $10^8$  germes/ml, préparée comme ci-dessus. Dans des conditions aseptiques chaque disque de papier Whatman stérile ( $\varnothing 6$ mm), a été trempé dans une solution de l'extrait végétal (300mg/ml), puis placé à la surface des milieux (précédemmentensemencés) à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte de Pétri, et des disques d'antibiotiques ont été déposés aux centre des boîtesensemencées (Figure 6). La capacité de croissance et de reproduction de chaque culture dépend de sa sensibilité à l'extrait étudié. Donc, si l'effet existe, une zone transparente claire se forme autour des disques de papier indiquant qu'il n'y a pas de croissance de microorganismes (Stanojevic *et al.*, 2017). Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 2 heure pour que l'extrait puisse diffuser, et elles ont ensuite été incubées pendant 24 heures à 37°C. La mesure des diamètres des zones d'inhibition (y compris le diamètre de disque de  $\varnothing 6$ mm) a été effectuée (trois répétitions) et les valeurs moyennes ont été calculées. L'extrait a été remplacé par le DMSO dans les témoins.

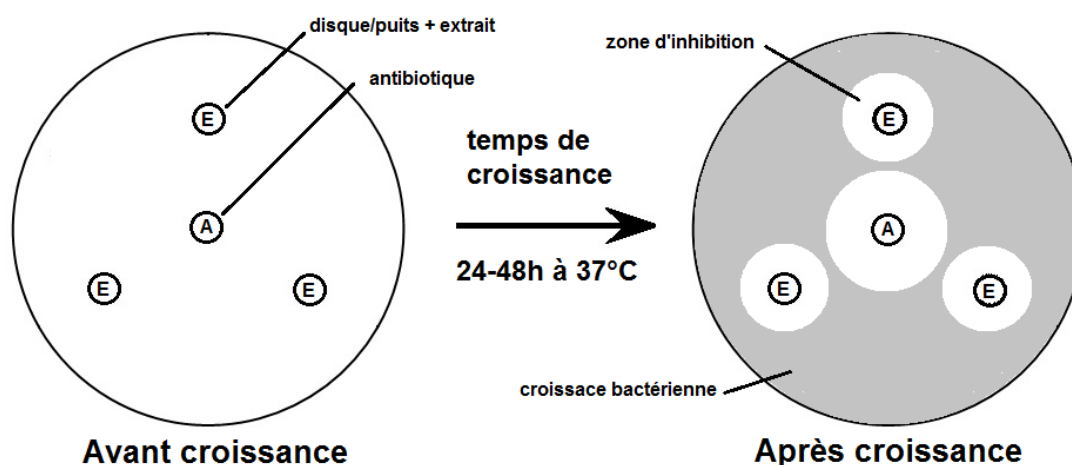


Figure 6. . Schéma représentant la technique des disques / puits de diffusion appliquée.

### 1.5.2. Méthode des puits de diffusion

Avec un emporte-pièce, des puits de 6mm sont creusés dans la gélose nutritive coulée dans des boîtes de Pétri (à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte) etensemencée par

écouvillonnage de suspension bactérienne de  $10^8$  germes/ml, préparée comme ci-dessus. Dans des conditions aseptiques l'EM (l'EA ou l'EAE) a été dissout dans le DMSO, pour atteindre une concentration finale de 600 mg/ml et 30 $\mu$ l de cette concentration sont incorporés dans chaque puits. Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 2 heure pour que l'extrait puisse diffuser, et elles ont ensuite été incubées pendant 24 heures à 37°C. Les diamètres d'inhibition sont ensuite mesurés autour des puits. L'extrait a été remplacé par le DMSO dans les témoins et l'antibiotique a été utilisée comme contrôle positif.

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (ZI) autour de chaque puits, ou de l'antibiotique. La réponse de la bactérie vis-à-vis de de l'extrait est qualifié de non sensible (-) pour les diamètres de 8mm (pas d'inhibition autour du disque); sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14mm ; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19mm ; extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm (Ponce *et al.*, 2003).

### **1.5.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La technique consiste à préparer les extraits séparément aux concentrations définies, puis les introduire dans le milieu de culture dans des microplaques de 96 puits. Les extraits ont d'abord été dissous dans le bouillon nutritif au DMSO pour l'EM et pour l'EA, et au DMSO/Ethanol/Acétate d'éthyle (4 :1 :1, v/v/v) pour l'EAE. Les suspensions bactériennes ont été préparées à partir des cultures jeunes de 18 h sur gélose nutritive et elles ont ensuite été ajustées à une turbidité standard de 0.5 McFarland.

Les valeurs de la CMI des extraits contre les souches bactériennes ont été déterminées par la méthode de microdilutions sur microplaque. Brièvement, les microplaques à 96 puits ont été préparées en distribuant dans chaque puits 95 $\mu$ l de bouillon nutritif et 5 $\mu$ l des inoculums. Cent (100)  $\mu$ l de la solution mère des extraits initialement préparés ont été ajoutés dans les premiers puits. Ensuite, 100 $\mu$ l de leurs dilutions ont été transférés dans sept puits consécutifs. Le dernier puits contenant 195 $\mu$ l de bouillon nutritif sans extraits et 5 $\mu$ l d'inoculum a été utilisé comme contrôle négatif. Le volume final dans chaque puits était 200 $\mu$ l et les concentrations finales dans le bouillon étaient de 500 à 3.90mg/ml pour l'extrait. Les microplaques ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24h. Les concentrations, dans les puits au niveau desquels aucune croissance n'est observée à l'œil nu, sont considérées comme des CMI (Sokmen *et al.*, 2004).

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en extrait capable de tuer plus de 99.9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0.01 % de survivants). Afin de déterminer cette concentration, 0.1ml de chaque puits dans lequel aucune croissance n'est observée estensemencé sur gélose nutritive puis incubé à 37°C pendant 24h. Les

concentrations, dans les boîtes qui ne présentent aucune croissance, sont considérées comme CMB.

### **1.6. Analyse statistique**

Toutes les analyses de l'activité antibactérienne sont faites en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par analyse de la variance (ANOVA), suivi du test à comparaisons multiple de Tukey. Pour l'ensemble des données, la significativité a été admise avec une erreur de 5% ( $p \leq 0.05$ ).

# PARTIE PRATIQUE : RESULTATS ET DISCUSSION

## 1. Résultats et discussion

### 1.1. Rendement en extraits de la plante

Les rendements de *Matricaria chamomilla* en extraits sont résumés dans le Tableau 1. Les rendements d'extraction sont exprimés en pourcentage (%) de masse d'extrait par rapport à la masse initiale du matériel végétal.

**Tableau 1.** Rendement d'extraction.

Extrait	Le poids (g)	Rendement (%)
Aqueux (EA)	5.1	25
Méthanolique (EM)	7.6	15.2
Éthyle acétate (EAE)	1.9	3.8

L'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé, suivie par l'extrait du méthanol, et le rendement le plus faible est obtenu par l'acétate d'éthyle. On peut conclure que le rendement de la plante étudiée augmente avec la polarité des solvants d'extraction. Le rendement de l'extraction peut varier selon plusieurs facteurs à savoir la méthode d'extraction, la durée de macération du matériel végétal dans le solvant, la température, le solvant utilisé et la nature chimique de l'échantillon (Su *et al.*, 2006).

## 1.2. Activité antibactérienne

### 1.2.1. Méthode des disques

Ce test a été basé sur l'imprégnation de disques de papier Whatman stérile (Ø6mm) dans une solution de l'extrait végétal (300 mg/ml), puis placé à la surface du milieu GNensemencé en bactéries. Après incubation des cultures aux temps et température appropriés, on a remarqué qu'il n'y a aucune zones d'inhibition autour des disques imprégnés d'extrait ; ceci peut s'expliquer par le fait que les disques n'ont pas absorbé une concentration suffisante pour inhiber les bactéries testées. Les antibiotiques ont donné des zones d'inhibition claires.

Cependant, le test du mélange des deux extraits EM/EAE (1:1, m/m) à la concentration 300 mg/ml, sur les bactéries testées avait un effet inhibiteur sur seules les bactéries *S. typhimirium* et *MRSA* avec les zones d'inhibition  $12,22 \pm 1,20$   $12,66 \pm 0,57$ , respectivement ; ce qui montre que ces bactéries sont sensibles. Mais n'avait pas d'effet contre les autres bactéries ; ce qui les qualifie résistantes au mélange des extraits EM et EAE de la plante.

### 1.2.2. Méthode de diffusion des puits

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien de l'EA et l'EM et l'EAE de *Matricaria chamomilla* par la méthode des puits de diffusion en milieu GN. L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant les extraits à tester vis-à-vis de 07 souches bactériennes.

Les témoins utilisés sont des antibiotiques utilisés comme contrôle positif et le DMSO utilisé comme contrôle négatif pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

Les résultats obtenus sont montrés dans les Tableaux 2 et 3 :

**Tableau 2.** Diamètres des Zones d'inhibition illustrant l'activité antibactérienne des extraits EM, EM et EAE (600mg/ml) \*.

	EM	EA	EAE
<i>S. aureus</i>	10,35 ± 0,81 <sup>a</sup>	11,65 ± 2,25 <sup>a</sup>	14,65 ± 0,16
<i>MRSA</i>	10,35 ± 0,81 <sup>a,b</sup>	14,75 ± 2,33 <sup>a,b</sup>	+
<i>B. subtilis</i>	9,6 ± 0,54 <sup>a</sup>	+	8,55 ± 0,52 <sup>a</sup>
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	10,2 ± 1,3 <sup>a</sup>
<i>K. Pneumoniae</i>	11,15 ± 0,75 <sup>b</sup>	14,65 ± 0,57 <sup>a,b</sup>	9,9 ± 0,92 <sup>a</sup>
<i>E. faecalis</i>	+	+	+
<i>S. typhimirium</i>	14,55 ± 3,45	+	+

+ : croissance totale.

\* Dans chaque colonne, les valeurs ayant la même lettre indique qu'il n'y a pas de différence significative selon le test de comparaisons multiple de Tukey. ( $p \leq 0.05$ ), (n=moyenne ± SD)

**Tableau 3.** Diamètres des Zones d'inhibition des souches testés vis-à-vis des antibiotiques.

	antibiotique	zone d'inhibition
<i>S. aureus</i>	Penicilline G 10ug	39 ± 0
<i>MRSA</i>	Teicoplanin 30ug	21,33 ± 0,57
<i>B. subtilis</i>	Teicoplanin 30ug	22 ± 1
<i>P. aeruginosa</i>	Pefloxacin 5ug	14,66 ± 0,57
<i>K. Pneumoniae</i>	Aztreonam 30ug	10,5 ± 0,70
<i>E. faecalis</i>	Teicoplanin 30ug	24,33 ± 0,57
<i>S. typhimirium</i>	Pefloxacin 5ug	28,33 ± 1,52

D'après les résultats obtenus (Tableau 2), les différents extraits de *M. chamomilla* ont présenté un effet antibactérien diversifié selon le type d'extrait, d'une part et la souche bactérienne d'autre part. Les bactéries testées, dans l'ensemble, peuvent être qualifiées de sensibles, à l'exception de *E. faecalis* qui a présenté une résistance aux extraits testés. Cette bactérie est très sensible à l'antibiotique TEC (ZI = 24mm). Selon le nombre de bactéries sensibles, les extraits peuvent être classés selon l'ordre EM > EAE > EA avec un effet sur 5, 4 et 3 bactéries, respectivement ; l'extrait EM a montré un effet antibactérien contre les souches *S. aureus*, *MRSA*, *B. subtilis*, *K. Pneumoniae* et *S. typhimirium*, mais n'avait pas d'effet sur *P. aeruginosa* et *E. faecalis* ; l'extrait EAE n'a exercé son effet antibactérien que contre les souches *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* et *K. Pneumoniae* ; et l'extrait EA avait une activité considérable contre les souches *S. aureus*, *MRSA* et *K. Pneumoniae* ; ces 02 dernières peuvent être qualifiées de très sensibles à l'extrait EA.

Sur le plan sensibilité élevée, quatre (04) bactéries peuvent être classées comme très sensibles (ZI > 14mm), celle-ci sont aussi très sensibles aux antibiotiques, exception faite pour *K. Pneumoniae* (Tableau 3).

Du point de vue efficacité antimicrobienne, la plante paraît efficace car, sous forme d'extraits différents, elle affecte 6/7 des bactéries testées ; soit 85,71%, et avec des niveaux de sensibilité différent en fonction du type d'extrait testé.

Dans une étude réalisée par Abdalla et Abdelgadir (2016) sur l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique et d'éthyle d'acétate de la plante *Matricaria chamomilla*, l'extrait méthanolique était très actif contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et avec une zone d'inhibition de 17±1.0 mm et de 17±0.0 mm respectivement à une concentration de 100 mg/ml. Par contre, l'extrait d'éthyle acétate n'a montré aucune efficacité contre ces mêmes souches.

Le mode d'action des extraits dépend du type de microorganisme, du type d'extrait et de sa concentration. En général, les bactéries Gram<sup>-</sup> sont plus résistantes que les bactéries Gram<sup>+</sup> et ce grâce à la structure de leur membrane externe (Poole et al., 2001). Les Gram<sup>-</sup> sont dotées d'une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et l'assise externe composée de lipopolysaccharides et de protéines et constituerait ainsi une barrière imperméable aux substances susceptibles d'entrer et d'empêcher la croissance des bactéries Gram<sup>-</sup> (chao et al.,2000).

### 1.2.3. Résultats de la Détermination CMI et CMB

La CMI correspond à la concentration minimale dans une série de concentrations où on n'observe pas de la croissance visuelle de bactéries, et la CMB consiste en la concentration minimale dans une série de concentrations qui empêche totalement la croissance bactérienne

autrement dit qui tue la bactérie exposée à cette concentration. Ses valeurs sont déterminées en exposant les souches bactériennes à plusieurs concentrations décroissantes de 500 mg/ml à 7,8 mg/ml des trois extraits végétaux séparément.

Les valeurs des CMI et CMB des extraits de *M. chamomilla* sont présentées dans le Tableau 4 :

**Tableau 4.** Résultats des CMI et CMB de extraits EM, EA et EAE de *M. chamomilla*.

	CMI (mg/ml)			CMB (mg/ml)		
	EM	EA	EAE	EM	EA	EAE
<i>MRSA</i>	62,50	250	125	125	>250	250
<i>S. typhimirium</i>	62,50	250	125	125	>250	250
<i>P. aeruginosa</i>	31,25	250	125	125	>250	250
<i>B. subtilis</i>	31,25	250	125	31,25	>250	250
<i>E. faecalis</i>	7,83	250	125	31,25	>250	250

Les résultats montrent que les bactéries examinés dans le milieu liquide sous l'effet des extraits EM, EA et EAE à différentes concentrations sont sensibles ; néanmoins la sensibilité varie les concentrations en extrait, mais surtout selon le type d'extrait. L'EM paraît le plus fort (valeurs représentatives de 7,83 à 62,5), suivie de l'extrait EAE (une seule valeur représentative ; 125) et enfin l'extrait aqueux (une seule valeur représentative ; 250). Les bactéries varient dans leur sensibilité vis-à-vis de l'extrait méthanolique est selon l'ordre *E. faecalis* plus sensible puis les 02 bactéries *B. subtilis* et *P. aeruginosa* et enfin les 02 bactéries *S. typhimirium* et *MRSA*.

Les CMB correspondent aux concentrations des extraits de *M. chamomilla* par rapport auxquelles on observe l'absence totale de la croissance bactérienne après l'ensemencement d'un volume du bouillon, où les CMI sont observées, sur la surface d'une gélose nutritive exempte d'extrait et une incubation pour une seconde période.

Selon le Tableau 4 les valeurs des CMB les plus remarquables sont celles qui concernent l'extrait méthanoliques (valeurs représentatives de 31,25 à 125), l'extrait EAE présentent un effet bactéricide avec sa valeur maximale ; 250 mg/ml. La valeur CMB de l'extrait aqueux est supérieure de 205 mg/ml. Les bactéries les plus affectées sont *B. subtilis* et *E. faecalis*. La concentration 31,25mg/ml de l'extrait méthanolique serait bactéricide pour *B. subtilis* ; ce qui implique que la CMI pour cette bactérie serait inférieure à 31,25mg/ml.

Selon Ouattara *et al.* (2017), le type d'activité antibactérienne peut être révélé par le rapport CMB/CMI ; l'activité bactéricide et bactériostatique absolue est indiquée par ces valeurs :

→ CMB / CMI < 2 : bactéricide ;

→ CMB / CMI > 2 : bactériostatique

Ce qui implique les résultats du Tableau 5 :

**Tableau 5.** L'effet bactériostatique/bactéricide des extraits EM et EAE *M. chamomilla*.

	Extrait EM				Extrait EAE			
	CMI	CMB	CMB/CMI	Effet	CMI	CMB	CMB/CMI	Effet
<i>MRSA</i>	62,50	125	2	Bactéricide	125	250	2	Bactéricide
<i>S. typhimirium</i>	62,50	125	2	Bactéricide	125	250	2	Bactéricide
<i>P. aeruginosa</i>	31,25	125	4	Bactériostatique	125	250	2	Bactéricide
<i>B. subtilis</i>	31,25	31,25	1	Bactéricide	125	250	2	Bactéricide
<i>E. faecalis</i>	7,83	31,25	4	Bactériostatique	125	250	2	Bactéricide

Sur la base de ces résultats, il est clair que l'extrait méthanolique exerce une activité bactéricide contre les bactéries *B. subtilis*, *S. typhimirium* et *MRSA* (CMB/CMI ≤ 2) et bactériostatique sur les bactéries *P. aeruginosa* et *E. faecalis* (CMB/CMI > 2).

# CONCLUSION

## **Conclusion**

Aux cours de notre travail, nous avons entrepris l'étude de l'activité antibactérienne, contre des bactéries Gram-positives et d'autres Gram-négatives, des extraits de *Matricaria chamomilla* L. (Asteraceae).

L'extraction par deux méthodes a permis d'obtenir trois extraits dont l'extrait méthanolique et acétate d'éthyle par macération, et l'extrait aqueux par décoction. Les rendements étaient de 25, 15,2 et 3,8% pour l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et l'extrait d'éthyle acétate, respectivement.

L'activité antibactérienne a été vérifiée par deux méthodes préliminaires ; disques de diffusion et puits de diffusion en milieu solide. La concentration utilisée a atteint 600 mg/ml, et la sensibilité varie selon l'extrait d'une part, et selon la souche bactérienne d'autre part. De même pour les CMI et les CMB.

En conclusion, les trois extraits exercent une activité antibactérienne dépendante de la technique appliquée et de la concentration en extrait.

*Matricaria chamomilla* poussant à l'état spontané aux environs de M'sila présente une activité antibactérienne sur au moins 05 bactéries. D'autres techniques d'étude de l'activité antimicrobienne peuvent être entreprises pour confirmer les vertus de cette plante locale.

## REFERENCES : BIBLIOGRAPHIQUES

## Références Bibliographiques

- Abayomi, S. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. KARTHALA Editions.
- Abbasi, A. M., Khan, M. A., Ahmad, M., Zafar, M., Jahan, S., & Sultana, S. (2010).** Ethnopharmacological application of medicinal plants to cure skin diseases and in folk cosmetics among the tribal communities of North-West Frontier Province, Pakistan. *Journal of ethnopharmacology*, 128(2), 322-335.
- Abdalla, R. M., & Abdelgadir, A. E. (2016).** Antibacterial activity and phytochemical constituents of *Cinnamomum verum* and *Matricaria chamomilla* from Sudan. *Bio Bulletin*, 2(2), 01-0.
- Agra, M. D. F., Silva, K. N., Basílio, I. J. L. D., Freitas, P. F. D., & Barbosa-Filho, J. M. (2008).** Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Revista brasileira de farmacognosia*, 18, 472-508.
- Akassa, H., Ondele, R., Peneme, B. M. L., Etou Ossibi, A. W., Morabandza, C. J., Tamboura, H. H., & Abena, A. A. (2019).** Activité aphrodisiaque et étude du mécanisme d'action de l'extrait aqueux des écorces de tronc de *Pausinystalia yohimbe* Kschum (Rubiaceae) chez le rat wistar. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 39(1), 6372-6383.
- Atere, T.G., Akinloye, O.A., Ugbaja, R.N., Ojo, D.A., Dealtry, G., (2018).** In vitro antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of standardized extract of *Costus afer* leaf. *Food Science and Human Wellness*, 10 : 1016 .
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
- Benkiki, N. (2006).** Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum* (Doctoral dissertation, UB1).
- Bernard, M., & Latgé, J. P. (2001).** *Aspergillus fumigatus* cell wall: composition and biosynthesis. *Medical Mycology*, 39(1), 9-17.
- Biabiany, M. (2011).** Recherche et développement d'extraits antifongiques issus de la flore guadeloupéenne: caractérisations phytochimiques, pharmacologiques et formulation (Doctoral dissertation, Lille 2).
- Bouba, A. A. (2009).** Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun: Caractérisation physico-chimique et fonctionnelle (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).
- Brans, A. (2015).** Les mycoses superficielles: pharmacologie des anti-fongiques (Doctoral dissertation, Thèse [UNIVERSITE DE LILLE 2]).
- Chao, S. C., Young, D. G., & Oberg, C. J. (2000).** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of essential oil research*, 12(5), 639-649.
- Clarke, S. C. (2004).** Collins and Lyne's Microbiological Methods. *British Journal of Biomedical Science*, 61(2), 113.
- Corry, J. E. L. (2004).** Food microbiology: general principles. In *Microbiological Methods* (pp. 194-204). Collins and Lynes 8th edition.
- Ganfon, H., Houvohessou, J. P., Assanhou, A. G., Bankole, H. S., & Gbenou, J. (2019).** Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et des fractions de *Anogeissus leiocarpa* (DC)
-

- Guill. Et Perr. (Combretaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2), 643-651
- Gherboudj, O. (2014).** Étude phytochimique et activité antioxydante de *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. Et *Chrysanthemum deserticolum* Batt. & Trab. (Asteraceae). Université Constantine, 1.
- Hart, T., & Shears, P. (1997).** Atlas de Poche de Microbiologie, Flammarion Medecine-Sciences, 1997: Atlas de Poche de Microbiologie (Vol. 1). Bukupedia
- Heinrich, M., Barnes, J., Prieto-Garcia, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (2017).** Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy E-BOOK. Elsevier Health Sciences.
- Makhloufi, A. (2010).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru (Doctoral dissertation).
- Monier, J. (2017).** Evaluation du système Accelerate Pheno™ pour l'identification et l'antibiogramme rapides d'un panel de bacilles à Gram négatif directement à partir des flacons d'hémocultures (Doctoral dissertation).
- Mehani, M. (2015).** *Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus camendulensis dans la région de Ouargla* (Doctoral dissertation).
- Mradu, G., Saumyakanti, S., Sohini, M., & Arup, M. (2012).** HPLC profiles of standard phenolic compounds present in medicinal plants. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4(3), 162-167.
- Nauciel C. and Vildé J.L., 2005.** Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson. Paris. P: 5-10
- Ncube, N. S., Afolayan, A. J., & Okoh, A. I. (2008).** Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African journal of biotechnology*, 7(12).
- Ouattara, L. H., Kabran, G. R. M., Guessennd, N. K., Konan, K. F., Mamyrbekova-Bekro, J. A., & BEKRO, Y. A. (2017).** Activités antibactériennes in vitro des extraits d'écorces de racines de *Mezoneuron benthamianum* et de tiges de *Paullinia pinnata*: 2 plantes de la pharmacopée Ivoirienne. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 18, 31-40.
- Ponce, A.G., Fritz R., Delvalle, C. et Roura, S.I., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologic*, 36 : 679-684.
- Poole, K. (2001).** Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Current opinion in microbiology*, 4(5), 500-508.
- Rasool Hassan, B. A. (2012).** Medicinal plants (importance and uses). *Pharmaceut Anal Acta*, 3(10), 2153-435.
- Rios, J. L., & Recio, M. C. (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 80-84.
- Sablonnière B., 2006.** Réussir le BEP biologie microbiologie.
- Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, A.-H., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M., Sahin, F., (2004).** The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 15 : 627–634.
- Stanojevic, P. L., Marjanović-Balaban, Z., Kalaba, V.D., Stanojević, J., Cakic, M., Cvetkovic, D., (2017).** Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of
-

Basil (*Ocimum basilicum L.*) Essential Oil. *Journal of essential oil-bearing plants JEOP*, **20** (6) :1557-1569.

**Su, X., Duan, J., Jiang, Y., Shi, J., & Kakuda, Y. (2006).** Effects of soaking conditions on the antioxidant potentials of oolong tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(4), 348- 353

**Tan, J. B. L., & Lim, Y. Y. (2015).** Critical analysis of current methods for assessing the in vitro antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. *Food chemistry*, 172, 814-822

**Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Ouar Korich, M. N. (2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91(1), 5-12.

**Sites internet**

<https://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/immu2.htm>

---

## **Annexes**

### **Milieux de culture utilisés "composition".**

- **Bouillon nutritif (BN) (g/l)**

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium	5 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7.2

- **Gélose nutritive (GN) (g/l)**

Peptone	5 g
Extrait de viande	1 g
Extrait de levure	2 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7.4

---

## ملخص

البابونج *Matricaria chamomilla* هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة Compositae. يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي ضد الأمراض الجلدية المختلفة، كما يستخدم زيتة الأساسي كعامل مضاد للروماتيزم. كان الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المحضرة من الأجزاء الهوائية لهذا النبات. أعطى الاستخلاص بالجلي المائي أعلى مردود (25٪). أعطى الاستخلاص بالنقع بالميثانول مردودا قدره 15.2٪ ، وأعطى 3.8٪ مع خللات الإيثيل. تم التحقق من الفعالية المضادة للبكتيريا للنبات (المستخلصات) باستخدام سبع (7) سلالات متضمنة Gram+ و Gram- . سمحت تقنية آبار الانتشار بتأهيل حساسية البكتيريا المدروسة على أنها حساسة لجميع المستخلصات المختبرة (يتراوح قطر هالة التثبيط من 8.55 إلى 14.75 مم). تم تحديد قيم الـ MIC وتفاوت ما بين 7.43 إلى 62.5 مجم / مل للمستخلص الميثانولي ، من 125 و 250 مجم / مل لمستخلص خللات الإيثيل والمستخلصات المائية على التوالي ؛ تتفاوتت قيم الـ MBC من 31.5 إلى 125 مجم / مل للمستخلص الميثانولي ، من 250 وأكثر من 250 جم / مل لمستخلص خللات الإيثيل والمستخلصات المائية على التوالي. كانت البكتيريا الأكثر حساسية هي *Enterococcus faecalis* و *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas aeruginosa*.

الكلمات المفتاحية - *Matricaria chamomilla* ، Compositae ، النشاط المضاد للميكروبات ، المستخلص الميثانولي ، المستخلص المائي.

## Abstract

*Matricaria chamomilla* is a medicinal plant belonging to the Compositae family. It is widely used in traditional medicine against various skin conditions and its essential oil is also used as an antirheumatic agent. The aim of this work was to evaluate the antibacterial activity of extracts prepared from the aerial parts of this plant. Extraction by aqueous decoction gave the highest yield (25%). Extraction by maceration with methanol gave a yield of 15.2%, and gave 3.8% with ethyl acetate. The antibacterial activity of the plant (extracts) was verified using seven (7) strains including Gram+ and Gram-. The wells diffusion technique allowed to qualify the sensitivity of the bacteria studied as sensitive to all the extracts tested (ZI varies from 8.55 to 14.75 mm). The MICs have been determined and vary between 7.43 to 62.5 mg/ml for the methanolic extract, from 125 and 250 mg/ml for the ethyl acetate and aqueous extracts respectively; the MBCs vary from 31.5 to 125 mg/ml for the methanolic extract, from 250 and more than 250 g/ml for the ethyl acetate and aqueous extracts respectively. The most sensitive bacteria were *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

**Key words** - *Matricaria chamomilla*, Compositae, antimicrobial activity, methanolic extract, aqueous extract.

## Résumé

*Matricaria chamomilla* est une plante médicinale appartenant à la famille des Composées. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle contre diverses affections cutanées et son huile essentielle est également utilisée comme agent antirhumatismal. Le but de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits préparés à partir des parties aériennes de cette plante. L'extraction par décoction aqueuse a donné le rendement le plus élevé (25%). L'extraction par macération au méthanol a donné un rendement de 15,2%, et a donné 3,8% par l'acétate d'éthyle. L'activité antibactérienne de la plante (extraits) a été vérifiée en utilisant sept (7) souches dont des Gram+ et des Gram-. La technique des puits de diffusion a permis de qualifier la sensibilité des bactéries étudiées de sensibles à l'ensemble des extraits testés (ZI varie de 8,55 à 14,75 mm). Les CMI ont été déterminées et varient entre 7,43 à 62,5 mg/ml pour l'extrait méthanolique, de 125 et 250 mg/ml pour les extraits acétate d'éthyle et aqueux respectivement ; les CMB varient de 31.5 à 125 mg/ml pour l'extrait méthanolique, de 250 et plus de 250 mg/ml pour les extraits acétate d'éthyle et aqueux respectivement. Les bactéries les plus sensibles sont *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

**Mots clés** - *Matricaria chamomilla*, Composées, activité antimicrobienne, extrait méthanolique, extrait aqueux.