



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

BETTAYEB Nouha & BOUKHELF Afifa

Thème

**Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de
Lavandula stoechas vis-à-vis de la flore bactérienne contaminant
de la viande bovine hachée**

Soutenu le : 02/07/2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Rekab Djabri Hamza</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Hamid Sonia</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Belaid Katia</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de USTHB</i>	<i>Co-promotrice</i>
<i>Djenadi Katia</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Remerciements

Nous remercions

*Dieu le tout Puissant de nous avoir fait naître musulmane,
de nous avoir donné la force, la santé, le courage et la patience
de pouvoir accomplir ce travail.*

A Madame Hamid Sonia

*Pour avoir dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour sa disponibilité, ses
conseils et la confiance qu'elle nous a accordé et qui nous
a permet de réaliser ce travail.*

A Madame Sayeh

*D'avoir accepté d'effectuer le stage de fin d'étude au sein de laboratoire d'hygiène
mais aussi pour son accueil, ces orientations et ces conseils.*

A Madame Djenadi Katia

*Pour son amour, sa gentillesse, sa patience et sa disponibilité chaque fois que nous en avons
besoin d'elle tous au long de parcours universitaire.*

A Monsieur Rekab Djabri Hamza

Pour avoir honoré ce travail en acceptant de présider le jury

En fin

*nous tenant à exprimer notre profonde sympathie
à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de nos
études et tout particulièrement aux enseignants de la spécialité.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A

ALLAH le tout puissant à qui je dois tout.

Mes très chers parents

*Pour leur amour, leurs encouragements et soutien sans faille
Je les remercie de m'avoir accompagnée tout au long de mon parcours
Mes sœurs et frères, Souha, Hadil, Raghed, Awab et Layen
La petite Sama*

Ma famille, mes tantes, mes oncles et mes cousines

*Toutes mes camarades de promotion : Chahinez, Rima, Radia, Sarah, Wissam, Amel et
Ouezna*

Mes amis d'enfance Hadjer, Fathia, Zineb et Amel

Ma binette Afifa, pour les moments inoubliables qu'on a passé ensemble pour
*commencer et achever ce modeste travail
Mes chères amies Assia, Samah et Maissa*

Mon fiancé que j'aime trop

Mes enseignants de primaire, CEM, lycée et université

*Toute personne qui, pendant le long parcours de mes études, m'a aidé de près ou de loin pour
arriver à ce moment où j'obtiens mon diplôme.*

Nouha

Dédicaces

*Avant tout, je remercie **le Dieu**, le tout puissant, pour m'avoir donnée la
force et la patience*

Je dédie ce modeste travail...

*A Mes très chers parents pour leurs amours, leurs soutiens et leurs encouragements durant
tout au long de mon parcours universitaire.*

A mon cher frère « Hicham ».

A mes chères sœurs « Ghania, Imane, Rihab et Oumaima ».

A tout ma famille « Zineb, Hadjer, Abd el Rahman, Massouda, Fatiha, Razika et Rachida ».

A ma copine Aldjia

*Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte
pour elle*

A tous mes amis

« Maissa, Ibtissem, Anfel, Mounia, Manale et wissam ».

A ma binette Nouha pour tous les souvenirs pendant les années d'études ensemble

Mes enseignants de primaire, CEM, lycée et université

Toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la

Réalisation de ce travail.

Afifa

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
Aw	Activité de l'eau
BMH	Bouillon de Mueller Hinton
C30	Chloramphénicol (30µg/disc)
CCA	Codex Alimentarius
CMB	Concentration Minimal Bactéricide
CMI	Concentration Minimal Inhibitrice
DF	Désossage à froid
DH	Désossage à chaude
D	Diamètre
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
E.Aq	Extraction aqueux
E.éth	Extrait éthanolique
E.hydro	Extraction hydro-éthanolique
FAO	l'Organisation des Nations-Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
FeCl₃	Chlorure ferrique
g	gramme
GEN10	Gentamicine (10µg/disc)
GN	Gram-négatif
GP	Gram-positif
H₂O₂	Eau oxygénée
JORA	Journal Officiel de la République Algérienne
K	Potassium
<i>L. stoechas</i>	<i>Lavandula stoechas</i>
LPS	Lipopolysaccharidique
Mg	Magnésium
mg	Milligramme
ml	Millilitre
mm	Millimètre
MO	Micro-organismes
MS	Métabolites secondaires
PCA	Plate Count Agar
pH	Potentiel Hydrogène
rH	Potentiel d'oxydo-réduction

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Se	Sélénium
T°	Température
TIA	Toxi-infections alimentaires
TIAC	Toxi-infection alimentaire collective
TSE	Tryptone Sel Eau
VRBL	Violet Red Bile Lactose
Zn	Zinc
µl	Microlitre
µm	Micromètre

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie de <i>Lavandula stoechas</i>	11
Tableau 2 : Classification et structures des alcaloïdes	14
Tableau 3 : Le lieu, la date, le nombre et la quantité d'échantillons de la viande bovine hachée fraîche.....	19
Tableau 4 : Rendement de l'extrait éthanolique, hydro-éthanolique et aqueux de <i>L. stoechas</i>	38
Tableau 5 : Mise en évidence des composées phénoliques de trois extraits de <i>L. stoechas</i>	40
Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne de trois extraits issus de <i>L. stoechas</i>	41
Tableau 7 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) de l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de <i>L. stoechas</i>	47
Tableau 8 : Rapport CMB/CMI de l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de <i>L. stoechas</i>	49

Liste des figures

Figure 1 : Aspect de (A) : <i>E. coli</i> ; (B) : <i>S. aureus</i> ; (C) : <i>Salmonella</i> sous microscope électronique	07
Figure 2 : Plante aromatique et médicinale <i>L. stoechas</i>	10
Figure 3 : Répartition géographique de <i>L. stoechas</i>	11
Figure 4 : (A) : Aspect de <i>L. stoechas</i> récoltée de la région de Kadiria (Bouira) ; (B) et (C) : les parties aériennes de <i>L. stoechas</i> après séchage	25
Figure 5 : Organigramme repris les étapes principales de préparation de trois extraits de <i>L. stoechas</i>	27
Figure 6 : Aspect macroscopique des GAMT à 30°C sur le milieu PCA	32
Figure 7 : Aspect macroscopique d' <i>E. coli</i> sur le milieu sélectif VRBL	33
Figure 8 : (A) : Aspect d' <i>E. coli</i> dans le bouillon Schubert ; (B) : Apparition d'un anneau rouge dans un tube de Schubert positif	34
Figure 9 : Aspect microscopique d' <i>E. coli</i> sous microscope optique G×1000	34
Figure 10 : Aspect macroscopique de <i>S. aureus</i> sur le milieu sélectif Chapman	35
Figure 11 : <i>S. aureus</i> a catalase+	36
Figure 12 : <i>S. aureus</i> a coagulase+	36
Figure 13 : Aspect microscopique de <i>S. aureus</i> sous microscope optique G×1000	37
Figure 14 : Nombre de <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> confirmées dans les échantillons de la viande bovine hachée	37
Figure 15 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait éthanolique de <i>L. stoechas</i> sur <i>E. coli</i>	41
Figure 16 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait hydro-éthanolique de <i>L. stoechas</i> sur <i>E. coli</i>	42
Figure 17 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux de <i>L. stoechas</i> sur <i>E. coli</i>	42
Figure 18 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait éthanolique de <i>L. stoechas</i> sur <i>S. aureus</i> ...	43
Figure 19 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait hydro-éthanolique de <i>L. stoechas</i> sur <i>S. aureus</i>	43

Figure 20 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux de <i>L. stoechas</i> sur <i>S. aureus</i>	44
Figure 21 : Zones d'inhibition (mm) des témoins positifs : (A) : Gentamycine sur <i>S. aureus</i> et (B) : chloramphénicol sur <i>E. coli</i>	44
Figure 22 : Sensibilité d' <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> aux différents concentrations de l'extrait éthanolique de <i>L. stoechas</i>	47
Figure 23 : sensibilité de <i>S. aureus</i> aux différentes concentrations de l'extrait hydro-éthanolique de <i>L. stoechas</i>	48

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction01

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Viande hachée

1. Définition de la viande hachée.....	04
2. Opération du hachage de la viande hachée	04
2.1. Désossage	04
2.2. Parage	04
2.3. Hachage	05
3. Incidence du hachage sur la contamination	05
4. Flore bactérienne de la viande hachée	06
4.1. Flore d'altération	06
4.1.1. Germes aérobies mésophile totaux à 30°C.....	06
4.2. Flore pathogène	06
4.2.1. <i>Escherichia coli</i>	06
4.2.2. Staphylocoques à coagulase +.....	06
4.2.3. <i>Salmonella</i>	07
5. Facteurs influençant sur l'évolution des germes dans la viande hachée	07
5.1. Facteurs intrinsèques	07
5.1.1. Activité de l'eau	07
5.1.2. pH.....	08
5.1.3. Potentiel d'oxydo-réduction	08
5.2. Facteurs extrinsèques.....	08

5.2.1.	Température.....	08
6.	Conséquences de la contamination sur la qualité de la viande hachée.....	08
6.1.	Putréfaction.....	08
6.2.	Intoxinations alimentaires.....	09

Chapitre II : *Lavandula stoechas*

1.	Généralités.....	10
2.	Classification phylogénétique de <i>Lavandula stoechas</i>	11
3.	Répartition géographique	11
4.	Usage de lavande.....	12
4.1.	Usage cosmétique	12
4.2.	Usage thérapeutique.....	12
4.3.	Usage culinaire	12

Chapitre III: Métabolites secondaires

1.	Généralités.....	13
2.	Définition des métabolites secondaires	13
3.	Classification des métabolites secondaires.....	13
3.1.	Alcaloïdes	14
3.1.1.	Classification des alcaloïdes.....	14
3.2.	Terpénoïdes.....	14
3.2.1.	Classification des terpénoïdes	15
3.3.	Polyphénols	15
3.3.1.	Classification des polyphénols	15
4.	Activités et propriétés biologiques des polyphénols	15
4.1.	Activité antibactérienne	15
4.1.1.	Interaction avec la paroi cellulaire bactérienne	16
4.1.2.	Altération de la fonction de la membrane cytoplasmique	16
4.1.3.	Inhibition des enzymes bactérienne	16
4.1.4.	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	17

4.1.5.	Chélation des métaux	17
--------	----------------------------	----

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

1.	Objectif de l'étude.....	18
2.	Lieu de l'expérimentation.....	18
3.	Matériel	18
3.1.	Matériel biologique.....	18
3.2.	Matériel non biologique.....	18
4.	Méthode.....	18
4.1.	Échantillonnage	18
4.2.	Transport des prélèvements	18
5.	Analyse bactériologique de la viande hachée.....	19
5.1.	Préparation de la suspension mère et des dilutions.....	19
5.1.1.	Suspension mère.....	19
5.1.2.	Dilutions décimales	20
5.2.	Recherche des GAMT à 30 °C	20
5.3.	Recherche des coliformes fécaux et <i>Escherichia coli</i>	20
5.3.1.	Test présomptif.....	20
5.3.2.	Test confirmatif	21
5.4.	Recherche de Staphylocoques à coagulase +	21
5.4.1.	Enrichissement	21
5.4.2.	Test confirmatif	22
5.4.3.	Isolement	22
5.4.4.	Identification biochimique	22

5.4.4.1.	Test de catalase	22
5.4.4.2.	Test de coagulase	23
5.5.	Recherche de <i>Salmonella</i>	23
5.5.1.	Pré-enrichissement	23
5.5.2.	Enrichissement	23
5.5.3.	Isolement	24
6.	Identification morphologique	24
6.1.	Examen microscopique.....	24
6.1.1.	Coloration du Gram.....	24
7.	Extraction de composés phytochimiques de <i>Lavandula stoechas</i>	25
7.1.	Récolte de matière végétale	25
7.2.	Extraction par macération à partir de la partie aérienne de <i>Lavandula stoechas</i>	26
7.2.1.	Extraction éthanolique.....	26
7.2.2.	Extraction hydro-éthanolique	26
7.2.3.	Extraction aqueux.....	26
7.3.	Détermination du rendement	27
7.4.	Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl ₃)	27
8.	Étude de l'activité antibactérienne de <i>Lavandula stoechas</i>	28
8.1.	Activation des souches bactériennes	28
8.2.	Préparation de l'inoculum.....	28
8.3.	Détermination de l'activité antibactérienne de trois extraits de <i>Lavandula stoechas</i> . 28	
8.3.1.	Méthode de diffusion sur disque	28
8.4.	Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de <i>Lavandula stoechas</i>	29
8.4.1.	Préparation de l'inoculum	29
8.4.2.	Préparation de la gamme de concentration des extraits de <i>Lavandula stoechas</i> 29	
8.4.3.	Inoculation.....	29

8.5. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) des extraits de <i>Lavandula stoechas</i>	30
8.5.1. Numération de l'inoculum.....	30
8.6. Rapport CMB/CMI.....	30

Chapitre V : Résultats et discussion

1. Résultat de GAMT à 30°C	32
2. Résultat de coliformes fécaux et <i>Escherichia coli</i>	32
2.1. Aspect macroscopique	33
2.2. Résultat de test confirmatif.....	33
2.3. Aspect microscopique.....	34
3. Résultat de staphylocoques à coagulase+.....	35
3.1. Aspect macroscopique	35
3.2. Résultat de l'identification biochimique.....	36
3.3. Aspect microscopique.....	36
4. Résultat de <i>Salmonella</i>	38
5. Résultat de rendement de trois extraits de <i>Lavandula stoechas</i>	38
6. Résultat de la détection des composées phénoliques	40
7. Résultat de l'activité antibactérienne de trois extraits de <i>Lavandula stoechas</i>	40
8. Résultats de la CMI et CMB vis-à-vis les souches sensibles à l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de <i>Lavandula stoechas</i>	47
9. Résultats du Rapport CMB/CMI de l'extrait éthanolique et hydroéthanolique de <i>Lavandula stoechas</i>	49
Conclusion.....	50
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	

Introduction

Introduction

La viande est une source d'aliment hautement nutritif qui fournit des protéines de haute qualité (20 à 25%), des minéraux (Mg, K, Zn et Se), des vitamines (Vitamine A, B, D, acide folique, etc) et de nombreux autres micronutriments de haute qualité nécessaire à une alimentation équilibrée (**Jiang et Xiong, 2016 ; Martinez *et al.*, 2018**). La consommation de la viande, en particulier de viande rouge (Bœuf, porc, agneau) remonte à l'antiquité et reste un mode de vie dominant et habituellement une forme de vie indispensable sur le plan nutritionnel dans la société moderne (**Jiang et Xiong, 2016**).

En Algérie, la couverture de la consommation totale en viande est de 99,07% à 100%, avec une production annuelle de 2 million de viande bovine dont la consommation en Kg/hab./ans de viande totale est de 18,1kg et celle de la viande bovine de 3,5kg (**Bouzebda- Afri et Bouzebda, 2007 ; Chikhi et Bencharif, 2016**).

Tandis que, la viande bovine hachée est un aliment de base dans le régime alimentaire de nombreux consommateurs, l'un de ses principaux inconvénients est la très courte durée de vie au détail (**Duong *et al.*, 2008**), en raison de la libération du suc musculaire très riche en substances nutritives qui constitue un excellent milieu de culture pour le développement bactérienne (**Oumokhtar *et al.*, 2008 ; Salifou *et al.*, 2010**).

La détérioration des aliments par le microbiote alimentaire est un problème majeur depuis plusieurs années. Certaines de ces micro-organismes contaminants peuvent altérer la qualité et sécurité des produits alimentaires (**Dubois-Brissonnet et Guillier, 2020**).

Cependant, la viande bovine est considérée parmi les véhicules de nombreuses maladies infectieuses d'origine alimentaire chez l'homme en raison des défauts d'hygiène (**Dennaï *et al.*, 2001 ; Fosse *et al.*, 2006**). De plus, vu que la viande bovine est une matrice alimentaire extrêmement périssable, leur qualité hygiénique dépend, d'une part de la contamination pendant les opérations d'abattage, découpe et hachage et d'autre part, le développement et la croissance des flores contaminants pendant le refroidissement, le stockage et la distribution (**Dennaï *et al.*, 2001 ; Oumokhtar *et al.*, 2008 ; Prach *et al.*, 2021**).

Pour les consommateurs, la couleur s'est révélée être le facteur le plus important lors de l'achat de viande bovine hachée (**Duong *et al.*, 2008**), pour que la couleur rouge vif de la viande est perçue étant fraîche et sécuritaire au contraire à une couleur brune oxydée (**Gasperlin *et al.*, 2001**).

La détérioration bactérienne de la viande bovine hachée joue un rôle important dans les changements organoleptiques du produit qui peut varier selon l'association bactérienne qui contamine la viande et les conditions dans lesquelles elle est interposée (**Ercolini et al., 2006**).

D'autre côté, elle influence sur la durée de la conservation de la viande hachée car selon Duong *et al.* (2007) parmi les facteurs principaux qui réduisent la durée de la conservation de la viande bovine hachée est la contamination et le développement bactérien qui peuvent affecter non seulement la couleur mais aussi la salubrité de la viande.

Les preuves scientifiques s'accroissent que les produits chimiques synthétiques, principalement les additifs et conservateurs alimentaires peuvent avoir des effets néfastes sur la santé du consommateur. Selon plusieurs études les conservateurs synthétiques sont la source de nombreux problèmes de santé tel que l'asthme, les difficultés cardiaques, cancer, l'obésité et d'autres maladies (**Sambu et al., 2022**).

En raison de la demande croissante d'aliments moins transformés, en plus sains, l'utilisation des agents antibactériens naturels plutôt que d'agent de conservation synthétique pour la conservation des aliments est très recherchée par les consommateurs et les secteurs alimentaires (**Ofori et al., 2020**). De plus, l'émergence de pathogènes multi-résistants responsables des maladies infectieuses d'origine alimentaire est devenue un problème mondial qui nécessite la découverte d'une alternative antibactérienne (**Ullah et al., 2020**). Pour cela, nombreuses études ont démontré l'activité antimicrobienne de plusieurs plantes et de leurs extraits, grâce à leur composition riche en métabolites secondaires y compris les polyphénols, les terpénoïdes, les alcaloïdes présentent des propriétés antimicrobiennes importantes (**Ofori et al., 2020**). Donc, en raison de la capacité antibactérienne de ces métabolites contre les micro-organismes pathogènes et de détérioration, ils sont considérés comme une option supérieure pour la conservation des aliments aux conservateurs synthétiques parce qu'ils ont des caractéristiques antibactériennes et antioxydantes en même temps. Réduire ainsi la propagation des infections d'origine alimentaire (**Teshome et al., 2022 ; Ullah et al., 2020**).

L'Algérie, par sa position biogéographique, sa flore riche et variée, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 400 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires. (**Hamel et al., 2018**). En revanche, la flore médicinale algérienne reste ignorée jusqu'à nos jours car sur les quelques milliers d'espèces végétales, uniquement 146 espèces sont considérées comme médicinales. (**Hamel et al., 2018**).

Le genre *Lavandula* présente environ 25 jusqu'à 30 espèces différents (**Martins et al., 2019**) et certaines espèces poussant à l'état sauvage en Algérie (**Bousmaha et al., 2005**).

Lavandula stoechas est une espèce de plante aromatique médicinale de la famille des *Lamiacées*, elle pousse dans la plupart des régions du monde mais avec une abondance dans la région méditerranéenne (Asghari *et al.*, 2016). Plusieurs études ont rapporté que les extraits aqueux et alcooliques de *L. stoechas* sont caractérisés par diverses activités biologiques, y compris : l'activité antibactérienne. Ces activités sont liées généralement aux composés phénoliques identifiés dans les extraits de cette plante (Ez zoubi *et al.*, 2020). De ce fait. Nous avons orienté notre étude dans le but d'étudier l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique, hydro-éthanolique et aqueux de *L. stoechas* sur la flore bactérienne isolé à partir de la viande bovine hachée. Afin de développer de cet objectif, nous avons adopté la méthodologie suivante :

- Isolement et identification de la flore bactérienne contaminant de la viande bovine hachée.
- Extraction éthanolique, hydro-éthanolique et aqueux de *L. stoechas*.
- Mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique, hydro-éthanolique et aqueux de *L. stoechas*.
- Détermination de la CMI et CMB des extraits de *L. stoechas*.
- Détermination du rapport CMB/CMI.

Notre travail est réparti en deux parties : une partie bibliographique repartie en trois chapitres, dans le premier chapitre, inclure des généralités sur la viande hachée. Dans le deuxième chapitre, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur l'espèce *L. stoechas* et le troisième chapitre comporte les métabolites secondaires des plantes et leur classification. Ensuite, la deuxième partie : c'est la partie expérimentale qu'elle est consacré aux : matériel et méthode utilisées et les résultats avec discussion relatifs aux différentes expérimentations menées. À la fin nous terminons par une conclusion et perspectives sur cette étude.

Chapitre I

Viande hachée

I. La viande hachée

1. Définition de la viande hachée

La définition de la viande hachée selon CE n° 853/2004 est une viande ayant subi une opération de hachage en fragments et ne contenant moins que 1% de sel (**République française, 2015**).

2. Opération du hachage de la viande hachée

L'opération du hachage de la viande procèdent, entre la découpe des carcasses et l'obtention de la viande hachée. Cette opération doit être effectuée plus en aval afin de réduire la durée entre la préparation et la consommation de la viande hachée ainsi il y aura un moindre risque de prolifération microbienne (**Lemaire, 1982**).

2.1. Désossage

C'est une opération qui permet de séparer les os des masses musculaires et des cartilages, de façon manuel en utilisant un type de couteau spécifique ou bien à l'aide d'équipements et machines spéciaux (**Templer, 2004 ; Purnell, 2013**).

La recherche s'est d'abord concentrée sur l'automatisation des processus manuel, ce qu'a donné lieu à plusieurs systèmes commerciaux de désossage. Récemment, les chercheurs ont mis on point des systèmes de désossages qui utilisent des robots. Ces systèmes sont maintenant disponibles dans le commerce (**Templer, 2004**).

Le désossage à chaude (DH) et le désossage à froid (DF) sont deux méthodes courantes de production de viande fraîche. Le DH consiste à désosser la carcasse dans les 1^{ères} heures suivant l'abattage avant refroidissement. Par contre, le DF consiste à désosser la carcasse qui a été refroidi après l'abattage (**Wen et al., 2022**). Le procédé de DH a été élaborer en réponse aux demandes commerciales visant à réduire la perte de poids, la consommation d'énergie et d'économiser l'espace de refroidissement (**Wen et al., 2022 ; Leo et Nollet, 2006**).

2.2. Parage

C'est une technique qui consiste à enlever les nerfs, la graisse, les vaisseaux sanguins, les cartilages et toutes les parties endommagées ou contaminés avant de les peser afin d'obtenir une viande maigre, propre à la consommation ou d'en améliorer sa présentation (**Bensid, 2018 ; Ratsimba, 2017**). La viande bien refroidie est coupée en très petits morceaux pour faciliter l'opération de hachage (**FAO, 1994**).

2.3. Hachage

C'est un procédé qui réduit la taille des morceaux de viande avec des structures cellulaires essentiellement intacts. Le hachage se fait généralement à l'aide d'un hachoir à viande ou bien un hachoir à bol. On peut également utiliser des machines à écailles produisant des morceaux de muscles de petite taille et discrète. Autrefois, le hachage se faisait à la main avec des couteaux coupant la viande en petits morceaux (**Honikel, 2014**).

3. Incidence du hachage sur la contamination

La viande elle-même dans sa composition est non seulement un aliment bien équilibré pour les êtres humains, mais aussi un bon milieu de culture pour les micro-organismes (MO). Dans un morceau de muscle intact, les MO sont habituellement sur la surface seulement, l'intérieur plus ou moins stérile (**Honikel, 2014**).

La contamination des viandes est variée, d'origine endogène comme exogène (**Jouve, 1966**). Les conséquences de ces contaminations seraient évidemment des produits de mauvaise qualité hygiénique, des toxi-infections alimentaires graves et des pertes économiques sérieuses (**Oumokhtar et al., 2008**). La contamination de la viande est début pendant l'opération d'abattage (80 à 90% de la microflore des viandes parvenant aux consommateurs en raison de la contamination au niveau des abattoirs) et se poursuit pendant l'opération de désossage, découpage et de la préparation de la viande au niveau des boucheries (**Oumokhtar et al., 2008 ; Dennaï et al., 2001**). En effet, l'opération de hachage favorise la pénétration et distribution des bactéries de la surface dans tout le produit où elles peuvent se multiplier rapidement (**Honikel, 2014 ; Oumokhtar et al., 2008**).

Le hachage facilite la vie microbienne car l'assemblage histologique cellulaire se transforme en bouillu de cellules mortes sans résistance aux microbes, ainsi que la sortie de suc musculaire qu'est très riche en substances nutritives fournit un excellent milieu de culture pour le développement de ces MO (**Jouve, 1966 ; Oumokhtar et al., 2008**).

Donc, la population microbienne notamment bactérienne dans la viande hachée dépend généralement de trois facteurs principaux : la qualité bactériologique des viandes utilisées pour l'abattage, la propreté de personnel et l'équipement, le temps et la température de l'entreposage (**Narasimha et Ramesh, 1988**).

4. Flore bactérienne de la viande hachée

Selon le journal officiel de la république algérienne (JORA) N° 39 (2017), les principaux germes de contamination de la viande hachée sont : les germes aérobies à 30°C, *Escherichia coli*, Staphylocoques à coagulase + et *Salmonella*.

4.1. Flore d'altération

4.1.1. Germes aérobies mésophile totaux à 30°C

Les germes aérobies mésophile totaux (GAMT) ne constituent pas un groupe taxonomique particulier mais un ensemble des bactéries, qui forment des colonies dénombrables après leur développement dans leurs conditions favorables sur la gélose PCA (Plate Count Agar). De plus, ces germes indiquent le niveau global de contamination bactérienne des viandes. L'incubation des GAMT est faite à 30°C pendant 72 h, mais d'autres températures (35°C, 37°C) sont parfois utilisées (Ghafir *et al.*, 2007 ; Dennaï *et al.*, 2001)

4.2. Flore pathogène

4.2.1. *Escherichia coli*

E. coli est une bactérie à Gram-négatif (GN) mobile, elle a une forme de court bâtonnet et elle appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est généralement considérée comme faisant partie de la microflore commensale normale de tractus gastro-intestinal de l'homme et de l'animal (Fig.1.A). Cependant, cette bactérie peut provoquer des infections entériques en raison de la présence d'un grand nombre de facteurs de virulence, pour cela, *E. coli* a été classé en bactéries pathogènes et non pathogènes. Et en tant qu'elle est la principale espèce bactérienne dans l'intestin et les excréments, leur présence dans les aliments et l'eau est considéré comme une indication de contamination fécale (Zaatou, 2022).

Cette bactérie est facilement récupérée à partir de différents échantillons en utilisant des milieux généraux ou sélectifs et en incubant à 37°C dans des conditions d'aérobies. La gélose Mac Conkey et/ou la gélose éosine-méthylène-bleu sont les milieux les plus souvent utilisés pour isoler les bactéries dans les différents échantillons (Marianne *et al.*, 2003).

4.2.2. Staphylocoques à coagulase +

Ces bactéries sont classées comme des cocci à Gram-positif (GP) groupé en amas, en diplocoques ou en courtes chaînettes, aéro-anaérobies facultatives, et elles ne sont ni mobiles ni sporulées. Ce sont des β -hémolytique, catalase et coagulase positive (Fig.1.B). Elle fait partie de la flore normale des êtres humains et se trouve principalement sur la peau, dans la région nasopharyngée, les plis inguinaux et les aisselles (Pasachova *et al.*, 2019).

Bien que les staphylocoques soient mésophiles, certaines souches de *S. aureus* se développent à une température aussi basse que 6-7°C. En général, la croissance de *S. aureus* se situe entre 7 et 47,8°C, la température optimale de croissance étant de 37°C, pour un pH allant de 4,5 et 9,3, avec un optimum situé entre 7,0 à 7,5 (Marianne *et al.*, 2003).

4.2.3. *Salmonella*

Les salmonelles sont des bacilles à GN aéro-anaérobies facultatives et mobiles, appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* et qu'elles peuvent supporter des températures comprises entre 8 et 45°C, et de pH situé entre 4 à 9, elles sont sensibles à la chaleur qui tuées à des températures de 70°C ou plus (Marianne *et al.*, 2003).

Généralement, les intoxications à la salmonelle causées par la viande sont graves tant par le nombre de patients ainsi que la sévérité des symptômes qui sont manifestes habituellement par : une diarrhée aiguë, une fièvre trop élevée, ainsi que, des douleurs abdominales, des nausées et des vomissements (Salifou *et al.*, 2013).

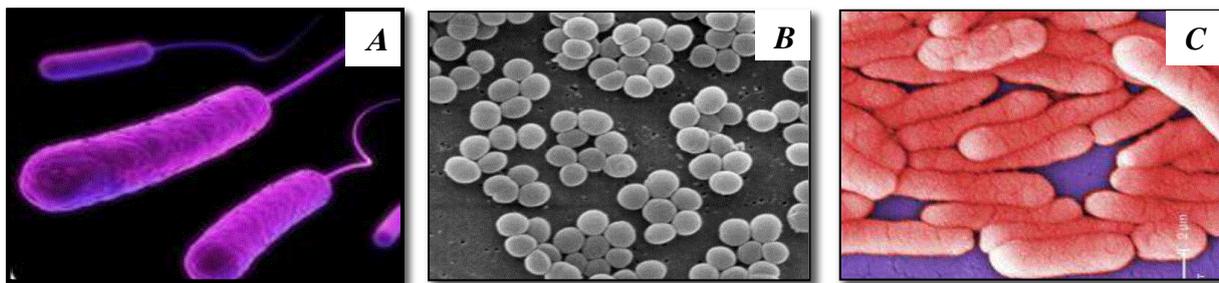


Figure 1 : Aspect de (A) : *E. coli* ; (B) : *S. aureus* ; (C) : *Salmonella* sous microscope électronique (Salifou *et al.*, 2013)

5. Facteurs influençant sur l'évolution des germes dans la viande hachée

La viande, par sa composition chimique, notamment sa richesse en eau et protéines de haute valeur biologique fait qu'elle est une niche très favorable au développement des micro-organismes. L'évolution de ces derniers dépend de certain nombre de paramètres, dont les plus importants dans la technologie de la viande : l'activité de l'eau (a_w) ; le potentiel hydrogène (pH) ; le potentiel d'oxydo-réduction (rH) et la Température (T°) (Salifou *et al.*, 2013).

5.1. Facteurs intrinsèques

5.1.1. Activité de l'eau

L' a_w est l'un des paramètres physico-chimique qui caractérise la teneur en eau des denrées alimentaires. En générale, Plus a_w se rapproche de 1, plus le milieu est favorable à la prolifération de la microflore. Par exemple : L' a_w de la viande fraîche est caractérisée par une a_w de l'ordre de 0.993, qui favorise la prolifération de toutes les espèces microbiennes.

En revanche, Toute diminution de l'aw rend le milieu défavorable au développement des MO, comme : les bactéries (**Salifou *et al.*, 2013 ; Akollor, 1997**).

5.1.2. pH

L'ensemble des MO sont très sensibles aux variations de pH. D'une façon générale, tout abaissement de ce paramètre conduit à la réduction de leur vitesse de développement. Destin que, les bactéries sont les premières affectées par ces variations viennent ensuite les levures et les moisissures (**James et James, 2000**).

5.1.3. Potentiel d'oxydo-réduction

Toute diminution dans le potentiel d'oxydo-réduction de la viande favorise développement des germes anaérobies de la putréfaction (**James et James, 2000 ; Salifou *et al.*, 2013**). Par exemple : la viande hachée se détériore rapidement car elle offre une plus grande surface d'exposition à l'air (**Brigitte *et al.*, 2005**).

5.2. Facteurs extrinsèques

5.2.1. Température

La T° est l'un des principaux paramètres physico-chimiques qui régissent la croissance microbienne, du sort que plus la température est élevée, plus le taux de croissance est forte. Plusieurs MO de la viande hachée se développent à des températures allant de moins de 0 °C Jusqu'à 65 °C, à savoir : les psychrophiles dont la T° optimale est entre -2 °C à 7 °C, les mésophiles entre 10°C à 40 °C et les thermophiles entre 43 à 66 °C. Par ailleurs, la basse température contribue à l'inhibition du développement des MO (**Salifou *et al.*, 2013**).

6. Conséquences de la contamination sur la qualité de la viande hachée

La multiplication des germes à partir de la contamination initiale peut conduire à l'apparition de MO viables qui sont responsables sur le phénomène d'altération amenant à la putréfaction (germes d'altérations), ainsi que, les intoxications alimentaires (germes pathogènes) (**Salifou *et al.*, 2013**) :

6.1. Putréfaction

Il s'agit d'un phénomène d'apparence progressive en raison de la dégradation de la viande par des bactéries et certaines levures qui attaquent les protéines musculaires. Les composés produits par le développement bactérien sont responsables sur l'aspect et de l'odeur caractéristiques des viandes putréfiées, qu'est représenté par : une odeur désagréable et une couche poisseuse d'une couleur grise ou brune (**Salifou *et al.*, 2013 ; Leyral et Vierling, 2007**).

6.2. Intoxications alimentaires

Plusieurs types d'intoxications alimentaires peuvent survenir en raison de l'utilisation d'aliments contaminés, mal préparés ou insuffisamment réfrigérés. Voici quelques-unes des intoxications alimentaires les plus courantes :

a. Intoxications alimentaires sont des empoisonnements dus à des toxines préformées dans l'aliment produit par certaines bactéries lors de leur croissance bactérienne, parmi eux : *S. aureus* qui caractérise par la production des entérotoxines staphylococciques, ainsi que, *Clostridium botulinum* productrice des toxines botuliniques (**Salifou et al., 2013**).

b. Toxi-infections alimentaires (TIA) sont l'ensemble des accidents qui résultent suite à l'ingestion d'un aliment contaminé par des agents pathogènes comme : Shigella et Salmonella. On parle de Toxi-infection alimentaire collective (TIAC) lors d'au moins de deux cas similaires d'une symptomatologie dont la cause peut être liée à la même source alimentaire (**Leyral et Vierling, 2007**).

c. Intoxications alimentaires proprement dites, sont dues suite à l'ingestion d'un aliment contient un taux élevés de MO, tel que : *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens* productrices des entérotoxines responsables de la production des intoxications alimentaires (**Salifou et al., 2013**).

Chapitre II

Lavandula

stoechas

II. *Lavandula Stoechas*

1. Généralités

Le genre *Lavandula* est composé d'environ 39 espèces différentes, ainsi que de nombreux hybrides et cultivars enregistrés. *L. stoechas* (Fig.2) et *L. angustifolia* sont parmi les espèces les plus connues et les plus appréciées sur le plan économique (Ez zoubi *et al.*, 2020).

L. stoechas (syn. *Stoechas officinarium Moench*) a été historiquement la première lavande formellement décrite, qui est caractérisée par le plus vaste territoire géographique. En Algérie, *L. stoechas* est connue sous le nom local "Helhal". Les parties aériennes cette plante, en particuliers, les inflorescences, ont un usage dans la médecine populaire algérienne comme un agent antiseptique et stimulant (Benabdelkader, 2014).

Les extraits issus de *L. stoechas* représentent une importante source de molécules naturelles bioactives. Ces molécules sont caractérisées par diverses activités biologiques dues à la présence de polyphénols, qui sont parmi les métabolites secondaires du grande importance pharmacologique (Amiour *et al.*, 2014).



Figure 2 : Plante aromatique et médicinale *L. stoechas* (Pepiniere-bretagne.fr)

2. Classification phylogénétique de *Lavandula stoechas*

La classification taxonomique de *L. stoechas* est représentée dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Taxonomie de *Lavandula stoechas* (Benabdelkader, 2012).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous famille	Nepetoideae
Tribu	Ocimeae
Genre	<i>Lavandula</i>
Sous genre	<i>Lavandula</i>
Section	<i>Stoechas</i>
Espèce	<i>L. stoechas</i> L

3. Répartition géographique

L. stoechas est répartie sur trois continents (Afrique, Europe et Asie) (Fig.4). Elle pousse autour du bassin méditerranéen, notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie, ainsi que d'autres pays. En Algérie, la lavande est largement répartie le long de la côte méditerranéenne dans plusieurs wilayas, y compris : Skikda, Jijel, Boumerdès, Bouira, Blida, Médéa, ainsi que d'autres wilayas (Benabdelkader, 2012).

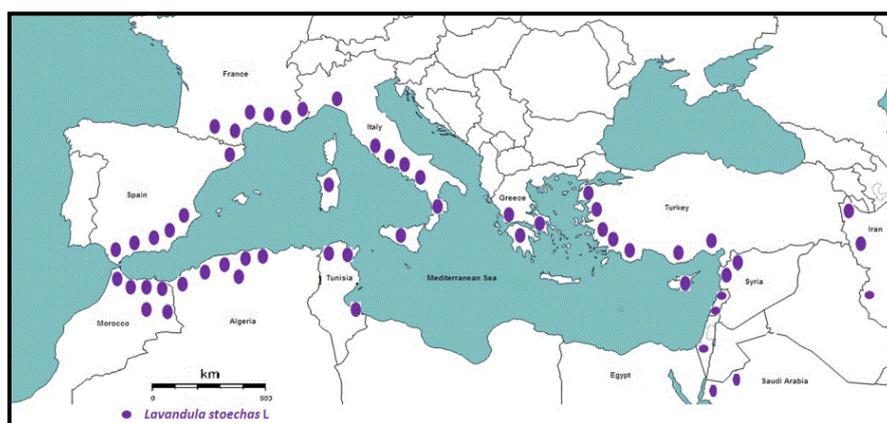


Figure 3 : Répartition géographique de *L. stoechas* (Ez zoubi et al., 2020).

4. Usage de lavande

La lavande est utilisée dans plusieurs domaines depuis longtemps tel que :

4.1. Usage cosmétique

Les fleurs et feuilles de lavande produisent des huiles essentielles qui peuvent être utilisées à nombreuses fins cosmétiques telles que : fabrication du parfum, savons, crèmes hydratent, shampoings et les produits pour le bain et le corps (**Waithaka et al., 2016 ; Wells et al., 2018**). La raison principale de l'utilisation de cette plante dans le domaine cosmétique est leur arôme agréable (**Sarkic et Stappen, 2018**) et leur efficacité comme agents de conservation naturels remplaçant les agents synthétiques nocifs dans les produits cosmétiques (**Wells et al., 2018**).

4.2. Usage thérapeutique

L. stoechas est considérée comme une plante aromatique médicinale, elle est utilisée pour soigner les blessures, les infections urinaires, l'eczéma et a des propriétés analgésiques et sédatives. Les extraits bruts de *L. stoechas* qui sont riches en métabolites secondaires notamment les polyphénols possèdent une activité antimicrobiennes, antifongiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-leishmanial et insecticides, remarquable (**Bachiri et al., 2016**). Dans les pays de Maghreb comme l'Algérie et la Tunisie, cette plante est utilisée dans la pharmacopée traditionnelle pour traiter les maux de tête, dépression, le diabète et les maladies inflammatoires et rhumatismales (**Ez zoubi et al., 2020**).

4.3. Usage culinaire

La lavande est utilisée comme un herbe culinaire pour préparer un type particulier de couscous, pour aromatiser des soupes, viande hachée et certain repas traditionnel, etc. (**Ez zoubi et al., 2020**). D'autre côté, le miel de lavande est actuellement parmi les miels de haute qualité les plus appréciés en raison de son arôme et son goût agréable (**Estevinho et al., 2011**).

Chapitre III

Métabolites

secondaires

III. Métabolites secondaires

1. Généralités

Le règne végétal produit des centaines de milliers de composés organiques de faible poids moléculaire. En se fondant sur les fonctions assumées de ces composés et le milieu de la recherche, ils sont classés en trois grands groupes : les métabolites primaires principalement les protéines, les glucides et les lipides, qui sont directement nécessaires à la croissance, le développement et reproduction des plantes; les métabolites secondaires (ou spécialisés), qui agissent sur les interactions entre les plantes et l'environnement; et enfin les hormones, qui régulent les processus organiques et le métabolisme (**Erb et Kliebenstein, 2020**).

2. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires (MS) sont des produits naturels synthétisés principalement par des plantes, des bactéries et des champignons. Ce sont des molécules de faible poids moléculaire généralement inférieur à 3 000 daltons avec un rendement très faible, diverses structures chimiques dont plus de 200.000 structures ont été définies et diverses activités biologiques (**Mosunova et al., 2021; Miralpeix et al., 2013 ; Hartmann, 2007**).

Le nom métabolites secondaires provient de l'observation initiale que leur production n'est pas nécessaire pour la croissance et la reproduction des organismes, contrairement aux métabolites primaires (**Mosunova et al., 2021**) mais jouent un rôle écologique important dans la défense contre les pathogènes, les ravageurs et les herbivores ou l'attraction des pollinisateurs (**Miralpeix et al., 2013**).

3. Classification des métabolites secondaires

La classification des MS peut effectivement être basée sur différents critères, tels que: leur structure chimique, leur composition, leur solubilité dans divers solvants, ou leur voie de synthèse. Selon le système de classification principale, les MS sont subdivisées en trois grands groupes : les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composées phénoliques (**Justin et al., 2014**). Chacun de ces groupes renferme une très grande diversité de composés qui présentent une très large gamme d'activités biologiques qui présentent une énorme valeur économique (**Krief, 2003**).

3.1. Alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturelle (le plus souvent d'origine végétale), présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe et doué de propriétés pharmacologiques marquées même à faible dose (Zenk et Juenger, 2007).

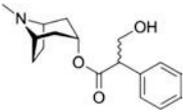
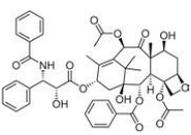
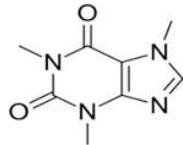
Les alcaloïdes sont produits par une vaste gamme d'organismes mais en particulier par les plantes. La plupart d'entre eux sont extrêmement toxiques à forte dose (Justin *et al.*, 2014).

En raison de leur puissante activité biologique, la plupart des alcaloïdes connus, environ 12.000, ont été exploités en tant que médicaments (agents antipaludéens : quinine ou agents anticancéreux : taxol), stimulants, narcotiques et comme poisons (Zenk et Juenger, 2007; Ziegler et Facchini, 2008).

3.1.1. Classification des alcaloïdes

Selon Sharma, (2019), les alcaloïdes ont été divisés en trois grandes classes en fonction des précurseurs et la structure finale (Tableau 2) :

Tableau 2 : Classification et structures des alcaloïdes (Sharma, 2019).

Alcaloïdes	Exemple	Structure biologique	Signification biologique
Alcaloïdes Vrais	Atropine		Anticholinergique
Proto - alcaloïdes	Taxol		Traitement du cancer de l'ovaire, du sein et du poumon
Pseudo - alcaloïdes	Caffeine		Antioxydant et anti-inflammatoire

3.2. Terpénoïdes

Les terpènes ou terpénoïdes sont de grands groupes d'hydrocarbures qu'appartiennent à la grande classe des MS, synthétisés par les plantes et impliqués dans l'adaptation à l'environnement et à la tolérance au stress. La plupart des terpénoïdes ont démontré leur efficacité dans la chimio prévention et la chimiothérapie du cancer grâce à leurs diverses activités biologiques, y compris : l'activité antimicrobienne, antifongique, antivirale, anti-inflammatoire,...etc.

De plus, ils jouent un rôle divers dans le domaine des aliments, des médicaments, des cosmétiques, des hormones, des vitamines, etc. (Boncan *et al.*, 2020 ; Cho *et al.*, 2017 ; Perveen, 2018 ; Paduch *et al.*, 2007).

3.2.1. Classification des terpénoïdes

La classification des terpènes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) (Malecky, 2008).

3.3. Polyphénols

Les polyphénols sont des micro-constituants naturels synthétisés exclusivement par les plantes. Ils représentent une catégorie diversifiée de MS végétal, avec des caractéristiques chimiques liées aux substances phénoliques et fortes bioactivités qui se traduisent au niveau de l'organisme par une large gamme de propriétés biologiques (Rajeev *et al.*, 2019 ; Tonny *et al.*, 2023 ; Loannis *et al.*, 2019).

3.3.1. Classification des polyphénols

Manach *et al.* (2004) ont choisi de classer ces principaux polyphénols par le nombre d'anneaux de phénol présents et par les composants structurels qui les lient ensemble. En différenciant les molécules en deux groupes : les flavonoïdes, basés sur le squelette commun C6-C3-C6, ils sont parmi les polyphénols les plus abondants dans notre alimentation. Ils peuvent être divisés en plusieurs classes selon le degré d'oxydation de l'hétérocycle oxygéné, à savoir : les flavones, les flavonols, les isoflavones, les anthocyanes, les flavanols, les proanthocyanidines et les flavanones (Scalbert *et al.*, 2000). Ainsi que, les non-flavonoïdes tels que les acides phénoliques (C6-C1) (les acides hydroxycinnamiques, acides hydroxybenzoïques et Coumarines), les stilbènes (C6-C2-C6) et les lignanes (C6-C3) (Camila *et al.*, 2018 ; Valeria *et al.*, 2020 ; Scalbert *et al.*, 2000).

4. Activités et propriétés biologiques des polyphénols

4.1. Activité antibactérienne

Le mécanisme de l'activité antimicrobienne des polyphénols contre les bactéries peut différer et dépend également à la fois du type de composé phénolique et de la souche bactérienne. Parmi les mécanismes les plus importants de l'action antibactérienne des polyphénols sont (Makarewicz *et al.*, 2021) :

4.1.1. Interaction avec la paroi cellulaire bactérienne

La principale fonction de la paroi cellulaire est de fournir la forme et l'intégrité de la cellule et d'agir comme une barrière osmotique (Makarewicz *et al.*, 2021). De nombreux chercheurs ont démontré la capacité des polyphénols à interagir avec la paroi cellulaire bactérienne, et ont constaté que la sensibilité à l'action des polyphénols des bactéries GN est différente de celle des bactéries GP. Ces dernières sont plus résistantes aux actions des polyphénols. Cela est dû aux différences dans la composition de la paroi cellulaire (Papuc *et al.*, 2017).

Pour rappel, la paroi cellulaire des bactéries à GN est constituée principalement d'une couche lipopolysaccharidique (LPS) (membrane externe) qui entrave les connexions de polyphénols aux couches peptidoglycanes de ces bactéries et ceci avec l'aide des enzymes associées dans l'espace péri plasmique, qu'est capable de décomposer de nombreuses molécules introduites de l'extérieur par contre les bactéries à GP sont constituées d'une épaisse couche de peptidoglycane et d'acides lipotéichoïques avec l'absence d'une membrane externe ce qui faciliterait la diffusion des acides phénoliques à travers la paroi cellulaire et l'acidification intracellulaire (Makarewicz *et al.*, 2021; Papuc *et al.*, 2017 ; Brown *et al.*, 2015).

4.1.2. Altération de la fonction de la membrane cytoplasmique

La membrane cytoplasmique est responsable de nombreuses fonctions essentielles : la formation d'une barrière perméable, régulant le passage des solutés entre la cellule et l'environnement extérieur ; la respiration cellulaire et le transport des substances (Makarewicz *et al.*, 2021).

Il a été signalé que les polyphénols interagissent avec les protéines et/ou les phospholipides de la membrane cytoplasmique des bactéries à GP et à GN ce qui provoquent une perturbation de la bicouche phospholipidique, l'augmente de la perméabilité de la membrane induisant à la lyse de la cellule bactérienne, l'affection de la fluidité de la membrane, l'inhibition de la respiration et la modification des processus de transport à travers inactivation de certaines enzymes comme : les perméases qui sont impliquées dans le transport de substrats (aminoacides et des polysaccharides). (Papuc *et al.*, 2017 ; Lojkowska et Holubovsca, 1992).

4.1.3. Inhibition des enzymes bactérienne

L'inhibition enzymatique est l'une des remarquables activités des polyphénols. Ces derniers, sont capables de se complexer avec les protéines bactériennes comme les enzymes afin de former le complexe protéine phénolique qui peut causer des changements sur les propriétés physico-chimiques et biologiques de l'enzyme via la modification de leur structure, le blocage de leur site active en inhibant ainsi leur activité (Makarewicz *et al.*, 2021).

4.1.4. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques

La synthèse de l'acide nucléique peut être inhibée par des polyphénols à travers l'inhibition de l'ADN topoisomérase. Les flavonoïdes sont des inhibiteurs importants des topoisomérases (Makarewicz *et al.*, 2021). Ohemeng *et al.* (1993) ont examiné 14 flavonoïdes de structure variable capable d'inhiber l'ADN gyrase d'*E. coli*.

4.1.5. Chélation des métaux

Les polyphénols peuvent limiter la croissance bactérienne grâce à leur capacité à chélater les métaux comme : le fer (Lakey-Beitia *et al.*, 2021 ; Papuc *et al.*, 2017). Ce dernier, est parmi les nutriments indispensables à la survie des MO, car il joue un rôle important dans plusieurs fonctions y compris sa nécessité pour la respiration ; le transport de l'oxygène ; la réplication, la transcription de l'ADN et la constriction de la matrice extracellulaire (Lakey-Beitia *et al.*, 2021).

Chapitre IV

Matériels et

Méthodes

1. Objectif de l'étude

Notre étude est basée sur la mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique, hydro-éthanolique et aqueux de la plante médicinale *L. stoechas* sur les souches bactériennes contaminants isolées à partir de la viande bovine hachée.

2. Lieu de l'expérimentation

La partie expérimentale de notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire d'hygiène ESPS de Bouira ainsi qu'au niveau de laboratoire de biochimie, département biologique (SNV-ST) de l'université de Bouira dont la durée allant du Mars au Mai 2023.

3. Matériels

3.1. Matériel biologique

Dans notre étude le matériel biologique utilisé est composé de la matrice alimentaire qu'est la viande bovine hachée, la plante médicinale *L. stoechas* et les souches bactériennes isolées à partir de la viande hachée : *E. coli* à Gram négatif et *S. aureus* à Gram positif.

3.2. Matériel non biologique

Les milieux de cultures, les réactifs, les appareils, verreries et les disques d'antibiotiques utilisées au cours de notre étude au niveau de deux laboratoires déjà cité sans présenter au niveau d'annexe I (Tableau I).

4. Méthode

4.1. Échantillonnage

Le nombre total d'échantillons de la viande hachée bovine étudiés est de 13 échantillons. Les prélèvements sont effectués au niveau des différentes boucheries de la wilaya de Bouira.

4.2. Transport des prélèvements

Une fois les prélèvements s'effectués, ils sont immédiatement déposés dans des sachets stériles et transportés dans une glacière froide vers le laboratoire d'Hygiène EPSP de Bouira où l'analyse bactériologique s'effectue. Le nombre de prélèvements, la date et la quantité en gramme de la viande bovine hachée sont illustré dans le tableau 03 :

Tableau 3 : Le lieu, la date, le nombre et la quantité d'échantillons de la viande bovine hachée fraîche.

Lieu	N° d'Échantillon	Date	Quantité
Lakhdaria	1	27/02/2023	100 g
Lakhdaria	2	28/02/2023	78g
Kadiria	3	28/02/2023	89g
Bouira	4	01/03/2023	70g
Bouira	5	01/03/2023	66g
Bouira	6	05/03/2023	50g
Kadiria	7	05/03/2023	57g
Kadiria	8	19/03/2023	60g
Lakhdaria	9	19/03/2023	55g
Kadiria	10	19/03/2023	80g
Bouira	11	19/03/2023	80g
Bouira	12	19/03/2023	74g
Lakhdaria	13	19/03/2023	62g

5. Analyse bactériologique de la viande hachée

La recherche et l'analyse bactériologique des échantillons de la viande bovine hachée ont été effectuées selon les normes du JORA N°39 du 2 juillet 2017 (**Journal officiel, 2017**), pour le but de déterminer la population bactérienne qu'il contient. Le principe de cette analyse est de faire isoler et identifier la population bactérienne qui se trouve dans nos échantillons, afin d'avoir une idée sur l'état bactériologique de notre produit alimentaire analysé.

Notre analyse bactériologique se base sur la recherche de la population bactérienne mentionnée par le journal officiel, qui est : Germes aérobies à 30°C, *E. coli*, Staphylocoques à coagulase+ et *Salmonella*.

5.1. Préparation de la suspension mère et des dilutions

5.1.1. Suspension mère

❖ Mode opératoire

- Le pesage de chaque échantillon a été effectué deux fois pour avoir un poids égal à 25g. la 1^{ère} 25g a été destiné à l'analyse bactériologique courante (GAMT à 30°C, *E. coli* et *S. aureus*) et la 2^{ème} 25g pour l'analyse bactériologique longue (*Salmonella*).

- 25g de chaque échantillon de la viande hachée a été mis dans un flacon stérile contenant 225ml de Tryptone Sel Eau (TSE).
- L'homogénéisation du mélange a été effectuée manuellement pendant 5 à 10 min.
- La suspension obtenue représente la suspension mère qui correspond à la dilution 10^{-1} ou 1/10 (NF en ISO 6887-2, 2004).

La suspension mère destinée à l'analyse bactériologique courante a été incubé à 37°C pendant 30 min avant la préparation de la série des dilutions décimales.

5.1.2. Dilutions décimales

❖ Mode opératoire

- Une série des tubes à essais stériles (de 10^{-2} jusqu'à 10^{-6}) contenant 9ml de TSE a été préparé préalablement.
- 1ml de la dilution mère 10^{-1} a été prélevé aseptiquement à l'aide d'une pipette pasteur en verre stérile et déposé dans un tube qui contient 9 ml de TSE pour avoir la dilution 10^{-2} .
- L'opération a été continue jusqu'à la dilution 10^{-6} (NF en ISO 6887-2, 2004).

Ces dilutions serviront à la recherche des GAMT à 30°C, *E. coli* et staphylocoques à coagulase+.

5.2. Recherche des GAMT à 30 °C

❖ Mode opératoire

- L'ensemencement a été effectuée en profondeur, 1 ml de chaque dilution a été prélevé et réparti dans une boîte de Pétri stérile sous forme de 20 gouttes.
- 10 à 15 ml du milieu PCA, ont été coulés dans l'ensemble des boîtes de pétris contenant les dilutions, après homogénéisées par des mouvements de huit sur une surface horizontale.
- Après solidification de la 1^{ère} couche de PCA, une deuxième couche protectrice a été coulée afin d'éviter le développement d'éventuelles flores de contamination superficielle.
- Les boîtes ont été ensuite incubées à l'étuve à 30°C pendant 72 heures (Dennai, 2001).

❖ Lecture

L'apparition des colonies blanchâtres lenticulaires en profondeur de PCA est considérée comme un résultat positif (Épouse Sy, 2006).

5.3. Recherche des coliformes fécaux et *Escherichia coli*

5.3.1. Test présomptif

- L'ensemencement a été effectuée en profondeur, 1 ml de chaque dilution a été prélevé et réparti dans une boîte de Pétri stérile sous forme de 20 gouttes.

- 15 ml du milieu VRBL, ont été coulés dans l'ensemble des boîtes de pétris contenant les dilutions, après homogénéisées par des mouvements de huit.
- Après solidification de la 1^{ère} couche de VRBL, une deuxième couche protectrice a été coulée. Par la suite, les boîtes ont été incubées à l'étuve à 44°C pendant 48 heures (**Joffin et Joffin, 2010**).

❖ **Lecture**

L'apparition des colonies rouge-violet entourées le plus souvent avec un halo rougeâtre est considéré comme un résultat positif (**Épouse Sy, 2006**).

5.3.2. Test confirmatif

Le but de ce test est confirmer la présence des coliformes fécaux thermo-tolérants, fermentant le lactose et produisant de l'indole à 44°C tels que *E. coli* dans les l'échantillons analysés.

- À partir des tubes positifs du test précédent, 2 à 3 colonies ont été isolées à partir des biotes représentant un résultat positif et mis par la suite dans un tube de Shubert contenant la cloche de durham.
- Les tubes ont été ensuite incubés à l'étuve à 44°C pendant 24 h.
- Par la suite, quelques gouttes du réactif de Kovacs ont été mises dans les tubes représentant des résultats positifs. La réaction a été immédiate (**Mazieres et al., 1980**).

❖ **Lecture**

Les résultats positifs se traduisent par l'apparition d'un trouble et un dégagement de gaz dans la clochede durham et l'apparition d'un halo rouge à la surface des tubes positifs après l'addition le réactif de Kovacs.

Après confirmation biochimique, les différentes colonies d'*E. coli* ont été ré-isolées sur le milieu VRBL afin d'obtenir des cultures pures.

5.4. Recherche de Staphylocoques à coagulase +

5.4.1. Enrichissement

- Une série de tubes à essais stériles ont été remplir avec 15ml de bouillon Giolitti Cantoni.
- Ces tubes ont été ensemencés à l'aide d'une anse de platine stérile avec un volume de 1ml de différentes dilutions préparées préalablement.
- La série des tubes a été incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 à 48h (**Joffin et Joffin, 2010**).

❖ Lecture

L'apparition d'un trouble après l'incubation est considérée comme un résultat positif.

5.4.2. Test confirmatif

Le but de ce test est confirmé la présence de staphylocoques à coagulase+ à travers l'addition de quelques gouttes du réactif Tellurit de potassium dans le tube de Giolitti Cantoni présent un trouble. Le noircissement du milieu est considéré comme un résultat positif. (**Joffin et Joffin, 2010**).

À cause du manque de ce réactif, nous n'avons pas fait ce test et nous sommes passés directement à l'étape suivante.

5.4.3. Isolement

- À partir des tubes de Giolitti Cantoni positifs, 1ml de chaque tube a été ensemencées en quadrant à l'aide d'une anse de platine stérile sur le milieu sélectif Chapman.
- Ensuite, les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 à 48h (**Dennai, 2001**).

❖ Lecture

L'apparition des colonies jaune dorés entourées d'une zone jaune brillante est considérée comme un résultat positif (**Maillot, 1985**).

5.4.4. Identification biochimique

La présence de Staphylocoques à coagulase + a été confirmée via les tests biochimiques de catalase et coagulase :

5.4.4.1. Test de catalase

Le test de catalase permet d'établir un diagnostic différentiel entre les Streptococcus (catalase-) et les Staphylococcus (catalase+) (**Robert, 2013**).

❖ Mode opératoire

- Une goutte de H₂O₂ (eau oxygénée) a été mise à la surface d'une lame stérile.
- Puis une colonie typique a été prélevée et grattée sur la goutte d'eau oxygénée (**Boussena, 2019**).

❖ Lecture

Dégagement immédiate des bulles d'oxygène observé à l'œil nu est considéré comme un résultat positif.

5.4.4.2. Test de coagulase

C'est un test utilisé afin de différencier entre les espèces du genre *Staphylococcus* à travers la mise en évidence la coagulase libre qu'est une enzyme capable de coaguler le plasma de lapin (El-Anzi, 2014).

- Une colonie typique bien isolée a étéensemencée dans un tube qui contient 5ml de Bouillon cœur-cerve (BHIB) après incubé pendant 24h à 37°C, afin de libéré l'enzyme coagulase.
- Après incubation 0,1ml de cette solution a été mis dans un tube qui contient 0,3ml de du sérum humain (à la place du sérum du lapine), et incubé à 37°C pendant 2h à 24h (JORA, 2013).

❖ Lecture

Un résultat positif est présenté par la présence d'un coagulum qui occupe plus des 3\4 du volume du liquide initial. (JORA, 2013).

Après confirmation biochimique, les différentes colonies de *S. aureus* sont ré-isolées sur le milieu Chapman afin d'obtenir des cultures pures.

5.5. Recherche de *Salmonella*

La recherche de *Salmonella* a été faite en 3 étapes, A savoir : le pré-enrichissement, l'enrichissement et isolement (EN en ISO 12824, 2000) :

5.5.1. Pré-enrichissement

- 25 g d'échantillon de viande hachée a été mis dans un flacon contenant 225 ml de TSE afin de préparer la suspension mère.
- La suspension mère a été incubée pendant 24 heures à 37°C.

5.5.2. Enrichissement

Dans cette étape deux séries d'enrichissement ont été préparées l'un est incubé à 37°C et l'autre à 44°C.

- 10ml de Pré enrichissement a été mis dans un flacon contenant 100ml du milieu SFB a double concentration avec 20 additives de SFB pour la 1^{er} série et 1ml de Pré enrichissement a été mis dans un flacon contenant 10ml du milieu SFB a double concentration avec 2 additives de SFB pour la 2^{ème} série.

5.5.3. Isolement

- 1ml de chaque série a été ensemencé en quadrant à l'aide d'une anse de platine stérile sur le milieu Hektoen. Par la suite, les boites ont été incubées pendant 24 heures à 37°C.

❖ Lecture

L'apparition des colonies vertes régulier avec un centre noir est considérée comme un résultat positif. (Metreveli *et al.*, 2022).

6. Identification morphologique

6.1. Examen microscopique

C'est un examen permet d'observer la forme, la taille, le Gram, le mode de regroupement, la mobilité ainsi que pureté de la souche (Alauzet, 2009).

6.1.1. Coloration du Gram

Il s'agit une double coloration qui permet de connaître la forme et nature biochimique de la paroi cellulaire bactérienne. Elle correspond à des différences biochimiques entre la paroi des bactéries GP et GN ce qui permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet (Boussena, 2019).

7. Extraction des composées phytochimiques de *Lavandula stoechas*

7.1. Récolte de matière végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de la partie aérienne (feuilles, fleurs et tiges) de la plante médicinale aromatique *L. stoechas*. Cette dernière a été récoltée le 5 mars 2023 dans la région de Kadiria wilaya de Bouira. Après récupération de la plante, les parties aériennes de la matière végétale ont été bien nettoyées et séchées naturellement à l'air libre et dans l'obscurité à une température ambiante (environ 25°C), sur du papier durant 15 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, ensuite broyées dans un moulin électrique en une poudre très fine puis tamisée ($D = 250 \mu\text{m}$), afin d'augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant et faciliter l'extraction. La poudre obtenue a été conservée dans un bocal hermétique à l'abri de l'humidité.

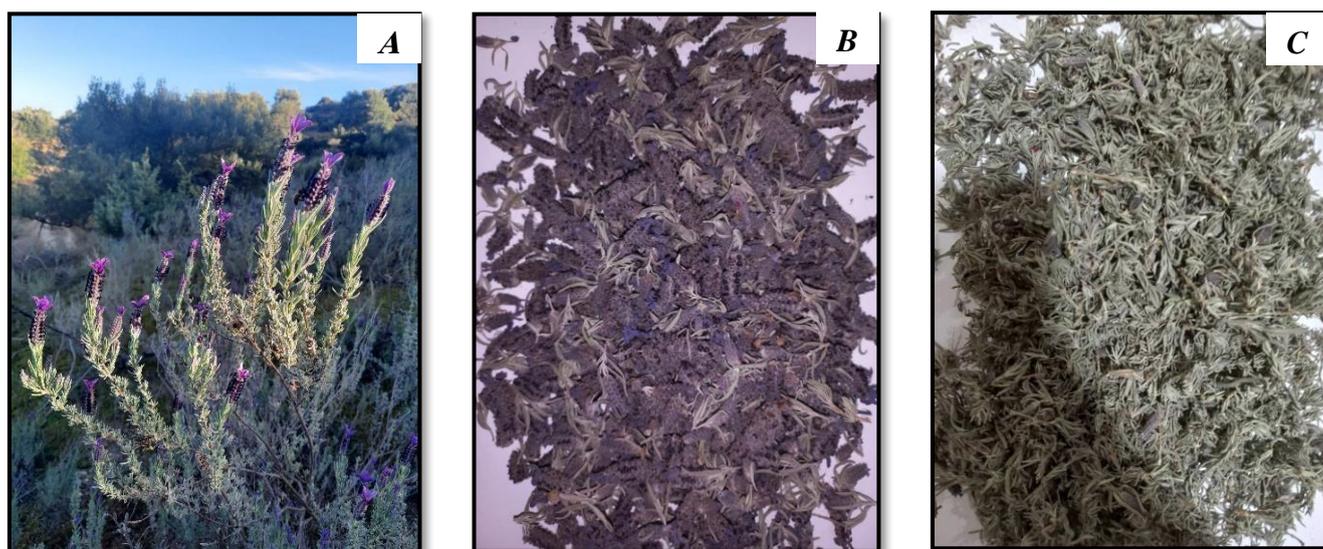


Figure 4 : (A) : Aspect de *L. stoechas* récoltée dans la région de Kadiria (Bouira) ; (B) et (C) : les parties aériennes de *L. stoechas* après séchage (Original, 2023)

7.2. Extraction par macération à partir de la partie aérienne de *Lavandula stoechas*

La macération est une méthode d'extraction solide liquide qui consiste à la mise en contact du matériel végétal avec le solvant d'extraction sans ou avec agitation, le plus souvent, à température ambiante. Cette méthode permet une extraction douce des principes actifs, surtout quand ils sont thermolabiles. Elle est basée sur la solubilité des composants bioactifs dans le solvant d'extraction. L'inconvénient principal de ce mode d'extraction est le risque de contamination bactérienne du produit final en l'absence d'ébullition ou bien lors des temps d'extraction très longs notamment si le solvant d'extraction est l'eau (**Escribano-Bailon et Santo-Buelga, 2003 ; Chabrier, 2010**)

Les extraits utilisés pour la réalisation de cette étude sont en nombre de trois, ils ont été préparés au niveau de laboratoire biochimique de la faculté science de la nature et de la vie de Bouira selon le protocole de Morgue *et al.* (2021) avec quelques modifications :

7.2.1. Extraction éthanolique

10g de poudre végétale a été mise à une extraction par macération avec 100 ml d'éthanol 70% pendant 24h à T° ambiante sous agitation continue. Après 24h, le mélange obtenu a été filtré à l'aide d'un papier filtre wathman N°3 fixée sur un entonnoir. Le filtrat a été mis à l'étuve ventilée à 40°C pour l'évaporation du solvant pendant 2 jours.

7.2.2. Extraction hydro-éthanolique

10g de poudre végétale a été mise à une extraction par macération avec 100 ml de solution hydro-éthanolique 70% (80 : 20, v/v) pendant 24h à T° ambiante sous agitation continue. Après 24 h, le mélange obtenu a été filtré l'aide d'un papier filtre wathman N°3 fixée sur un entonnoir. Le filtrat a été mis à l'étuve ventilée à 40°C pour l'évaporation du solvant pendant 2jours.

7.2.3. Extraction aqueux

10g de poudre végétale a été mise à une extraction par macération avec 100 ml de l'eau distillée stérile pendant 24h à T° ambiantes sous agitation continue. Après 24h, le mélange obtenu a été filtré l'aide d'un papier filtre wathman N°3 fixée sur un entonnoir. Le filtrat a été mis à l'étuve ventilée à 40°C pour l'évaporation du solvant pendant 2 jours.

Après l'évaporation, l'extrait brut ou sec a été repris dans son solvant d'origine afin d'obtenir une concentration égale à 100mg/ml puis stérilisés par une filtre membrane millipore dont le diamètre des pores est de 0.22 µm et conservées dans des flacons sombres stériles à 4°C jusqu'à leur utilisation.

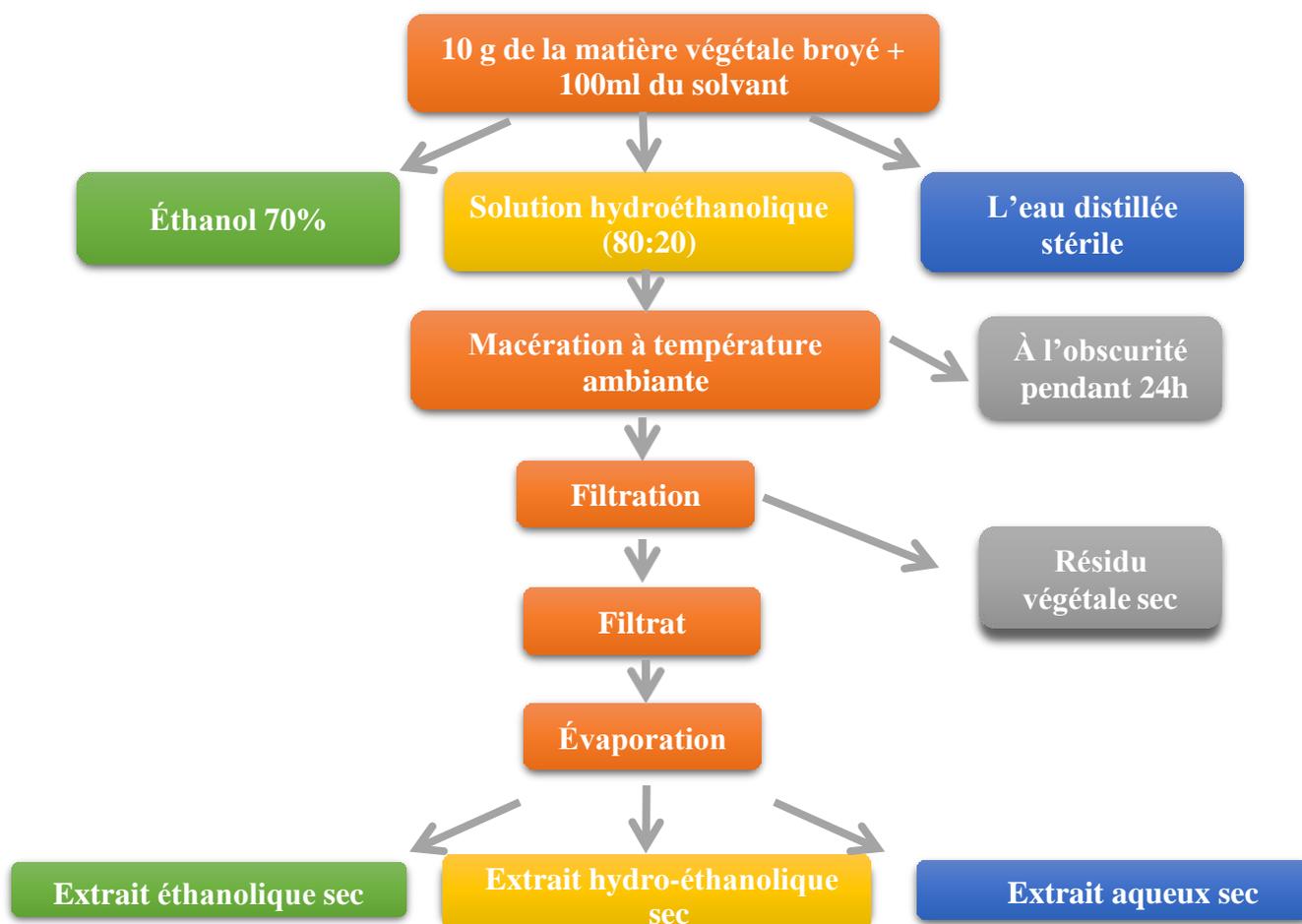


Figure 5 : Organigramme représente les étapes principales de préparation de trois extraits de *L. stoechas*

7.3. Détermination du rendement

Les extraits secs obtenus ont été pesés pour calculer le rendement (Rdt) de chaque extraction réalisée suivant la formule donnée par Bachiri *et al.* (2016) : $Rdt \text{ ext } \% = M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}} \times 100$. Où Rdt est le rendement en g ; M_{ext} c'est la Masse de l'extrait végétale après évaporation du solvant en g et $M_{\text{éch}}$ c'est la Masse de l'échantillon végétal en g.

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids de la boîte de pétri vide (avant évaporation) et plein (après évaporation) (Mohammadi, 2005).

7.4. Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl₃)

Dans un tube à essai stérile, quelques gouttes de FeCl₃ ont été ajoutées aux différents tubes contenant 2 ml de chaque extrait. La présence des composés phénoliques dans les trois extraits de *L. stoechas* a été indiquée par l'apparition d'une couleur verte-noirâtre (Bohui *et al.*, 2018).

8. Étude de l'activité antibactérienne de *Lavandula stoechas*

8.1. Activation des souches bactériennes

Une colonie de chaque souche bactérienne a été repiquée et ensemencée dans 10 ml de Bouillon Muller Hinton et incubée à 37°C pendant 3h. Après l'incubation chaque suspension bactérienne a été ensemencée à l'aide d'une anse de platine sur leur milieu de culture sélectif à 37°C pendant 18 à 24h afin d'obtenir des colonies jaunes et bien isolées. Ces derniers, ont servi à préparer l'inoculum bactérienne (Moroh *et al.*, 2008 ; Madani et Zaidi, 2019).

8.2. Préparation de l'inoculum

3 à 5 colonies similaires bien isolées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine puis déchargées dans de l'eau physiologique stérile (0,9 % NaCl). La suspension bactérienne a été ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex et sa turbidité a été ajustée à 0,5 Mc Farland, à l'aide d'un spectrophotomètre (D.O = 0,08 à 0,1 et $\lambda = 625\text{nm}$), ce qui correspond à une suspension contenant environ 10^8 UFC/ ml (Unité Faisant Colonie) (Fertout-Mouri *et al.*, 2016). La suspension est ajustée en ajoutant du l'eau physiologique si la valeur est supérieure à la limite minimale ou en ajoutant des colonies si elle est inférieure à la limite maximale (Boussene, 2020).

8.3. Détermination de l'activité antibactérienne de trois extraits de *Lavandula stoechas*

8.3.1. Méthode de diffusion sur disque

Pour étudier l'activité antibactérienne de trois extraits obtenus, on a choisi la méthode de diffusion sur disque (méthode de Vincent ou technique de l'aromatogramme) (Bachiri *et al.*, 2016), dont le principe est inspiré de l'antibiogramme visant à tester la sensibilité des souches bactériennes par diffusion de l'extrait sur le milieu solide créant ainsi un gradient de concentrations entre le composé bioactive et le microorganisme ciblé (Fertout-Mouri *et al.*, 2016).

❖ Mode opératoire

- L'ensemencement a été réalisée par écouvillonnage à partir d'un inoculum de 10^8 UFC/ ml. À l'aide d'un écouvillon stérile, introduit dans l'inoculum et essoré contre la paroi interne du tube, des stries serrées et parallèles ont été réalisé à la surface d'une boite de Pétri préalablement coulée avec la gélose de Mueller-Hinton. L'opération a été répété deux fois en tournant la boité 60° et en tournant l'écouvillon sur lui-même.
- Des disques en papier Wathman N°1 stérile de 6 mm de diamètre ont été imprégnés par un volume connu (10, 15, 20 et 25 μl) de chaque extrait testé de *L. stoechas* et déposés à la surface du la boite de Muller-Hinton déjà ensemencée.

- Des disques imprégnés avec le solvant d'extraction ont été considérés comme un témoin négatif et les disques d'antibiotique comme un témoin positif. Les boîtes de Pétri ont été conservés à 4 °C pendant 2 h et ensuite incubées à 37 °C pendant 24h (**Haddouchi et al., 2016**).
- La détermination de l'activité antibactérienne a été estimée par la mesure, à l'aide d'un pied de coulisse, du diamètre (mm) de la zone d'inhibition autour des disques. Chaque expérience est répétée trois fois, en même temps et au même endroit.

Après mesure de la zone d'inhibition, les résultats de la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits de *L. stoechas* testés sont symbolisées par les signes suivant : (-) : résistant ($D < 08\text{mm}$), (+) : Sensible ($09 < D < 14 \text{ mm}$), (++) : Très sensible ($15 < D < 19 \text{ mm}$) et (+++) : Extrêmement sensible ($D > 20 \text{ mm}$) (**Haddouchi et al., 2016**).

8.4. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de *Lavandula stoechas*

Elle est la plus petite concentration d'extrait de plante pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation du 18 à 24h (**Kouffi et al., 2021**). La détermination de la CMI a été réalisée par la méthode de dilution en milieu liquide ou macrodilution uniquement pour les extraits les plus actifs constatés lors le teste de sensibilité etayant induit un diamètre de la zone d'inhibition supérieur ou égal à 15 mm (**Fertout-Mouri et al., 2016**) selon les étapes suivantes :

8.4.1. Préparation de l'inoculum

L'inoculum bactérien pour chaque souche bactérienne a été préparé à partir de colonies jeunes en bouillon Mueller Hinton (BMH) dont la turbidité a été ajustée à 0,5 Mc Farland (soit 10^8 UFC/ml) (**Bolou et al., 2011**). Cette suspension bactérienne constitue la dilution ou le l'inoculum pur (**Toty et al., 2013**).

8.4.2. Préparation de la gamme de concentration des extraits de *Lavandula stoechas*

La gamme de concentration a été obtenue par la méthode de double dilution. Pour ce faire, une série de dilutions de raison 2, a été préparée à partir des extraits de *L. stoechas* dont le but d'obtenir des gammes de concentrations allant de 50 à 1,562 mg/ml (**Sanogo et al., 2016**).

8.4.3. Inoculation

Dans 6 tubes à essais expérimentaux stériles numérotés de C1 à C6, 1 ml de chaque gamme de concentration d'extrait de plante, a été mis en contact avec 1 ml d'inoculum bactérien. En revanche, Le tube témoin (C7) a reçu 1 ml BMH en plus de 1ml l'inoculum lorsque le témoin de stérilité a reçu uniquement 2 ml du BMH stérile. Les tubes ont été incubés pendant 24 heures à 37°C (**Sanogo et al., 2016**). La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a

été effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du MO étudié. La CMI correspondra donc à la plus faible concentration d'extrait pour laquelle il y a absence de turbidité dans les tubes expérimentaux. Par conséquent c'est le premier tube où la valeur d_i sera égale à df ($d_i = df$) (Moroh *et al.*, 2008).

Le pourcentage de survie des germes dans les tubes expérimentaux a été mesuré au spectrophotomètre réglé à 550 nm, selon la formule suivante :

$$S = \frac{(df - di)}{(Df - Di)} \times 100$$

Où S est le pourcentage de survie des germes ; $df - di$: différence de densité optique de tube expérimentale avant et après l'incubation ; $Df - Di$: différence de densité optique du tube témoin avant et après l'incubation (Ramadan *et al.*, 2018).

8.5. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) des extraits de *Lavandula stoechas*

La CMB est correspondre la plus faible concentration d'extrait de la plante qui laisse au plus 0,01% de germes survivants (Kouffi *et al.*, 2021).

8.5.1. Numération de l'inoculum

La numération de l'inoculum a été réalisée par une dilution au 10^{ème} à partir de l'inoculum pur qui correspond à 100% de survivants. On a obtenu 4 dilutions à 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ qui correspondent respectivement à 10%, 1%, 0,1% et 0,01% de survivants (Bolou *et al.*, 2011). Ces différentes dilutions ainsi que l'inoculum pur ont étéensemencés à l'aide d'une anse calibrée stérile de 2µl par stries de 5 cm de long sur une gélose Mueller Hinton puis incubés à 37 °C pendant 24 h. Cette préparation constitue la boîte (A) (Toty *et al.*, 2013).

Après la détermination de la CMI le 2^{ème} jour, les contenus des tubes, expérimentaux ont étéensemencés de façon identique à celle des boîtes (A) et incubées à 37 °C pendant 18 à 24h. La CMB a été lit au 3^{ème} jour, en comparant le nombre de colonies sur les stries de la boîte (B) à celles de la boîte de numération de l'inoculum (Boîte A). Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présents sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10⁻⁴ correspondra à la CMB (Moroh *et al.*, 2008).

8.6. Rapport CMB/CMI

Ce rapport permis de confirmer le caractère ou l'effet bactéricide ou bactériostatique d'une substance (extrait testée) (Morgue *et al.*, 2021). L'extrait est dit bactéricide si le rapport CMB/CMI est ≤ 4 ou quand sa CMB est égale à sa CMI. Il est dit bactériostatique si le rapport

CMB/CMI est > 4 ou quand sa CMB est supérieure à sa CMI. Lorsque ce rapport est égal à 32, la souche est dite tolérante (**Kouffi *et al.*, 2021**).

Chapitre V

Résultats et

Discussions

1. Résultats de GAMT à 30°C

Pour les GAMT à 30°C, on a détecté la présence totale de ces germes dans tous les échantillons. Ce résultat positif est représenté par l'apparition des petites colonies blanchâtres crémeuse lenticulaires (Fig.6) :

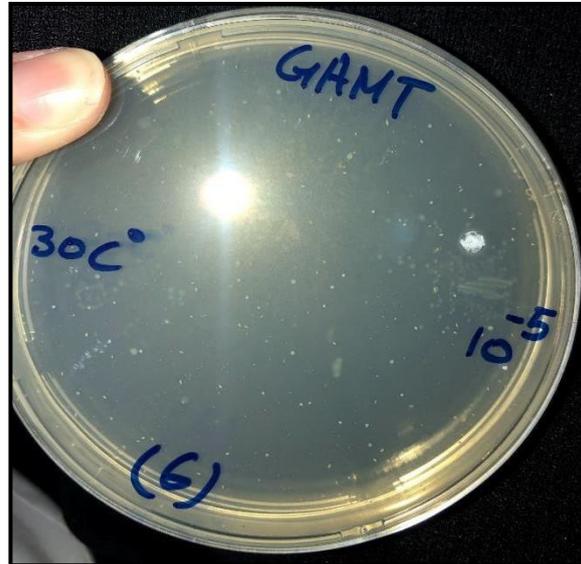


Figure 6 : Aspect macroscopique des GAMT à 30°C sur le milieu PCA
(Originale, 2023)

D'après les résultats obtenus, l'ensemble des échantillons analysés sont contaminés par les GAMT à 30°C. Ces derniers, sont des indicateurs sur l'application des bonnes pratiques d'hygiène. De plus, plusieurs études ont montré qu'il existe une étroite relation entre les opérations d'abattage et la contamination initiale de la viande hachée. Cependant, la contamination de la viande par ces germes est influencée par divers facteurs, tels que : les conditions de transport, les diverses manipulations de la viande hachée, ainsi que, la rupture de la chaîne froide et de la décongélation (Épouse Sy, 2006).

2. Résultats de coliformes fécaux et *Escherichia coli*

A partir de 13 échantillons de la viande bovine hachée, on a trouvé la présence des coliformes fécaux dans 9 échantillons dont lesquelles 3 souches de *E. coli* ont été détectés d'après les résultats de test de confirmation.

2.1. Aspect macroscopique

Après l'incubation, seuls les échantillons 6, 8 et 9 ont montré des colonies typiques à *E. coli*, qui représentent les caractéristiques suivantes : des colonies rouge-violet de taille moyenne, rondes avec des bords réguliers (Fig.7) :



Figure 7 : Aspect macroscopique d'*E. coli* sur le milieu sélectif VRBL
(Originale, 2023)

L'apparition des colonies rouge-violet est due à la capacité des souches d'*E. coli* de fermenter le lactose avec la production des acides organiques qui abaissent le pH du milieu et vont virer l'indicateur coloré de pH (rouge neutre) à rouge-violet (Doutoum, 2002).

2.2. Résultat de test confirmatif

Les résultats de test de confirmation (test de Schubert et Kovacs) représentés dans (fig.8) permettent de confirmer la présence *E. coli* au niveau des échantillons analysés.

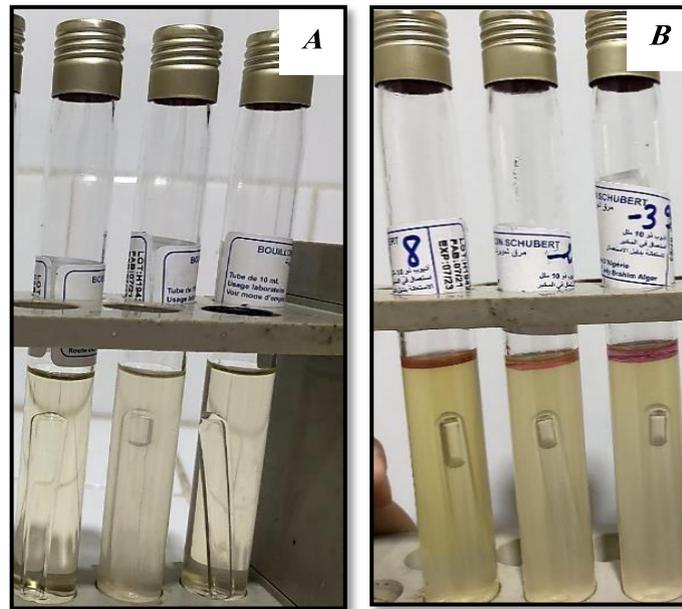


Figure 8 : (A) : Aspect d'*E. coli* dans le bouillon Schubert ; (B) : Apparition d'un anneau rouge dans un tube de Schubert positif (originale, 2023).

2.3. Aspect microscopique

Après coloration du Gram, on a observé au microscope optique des bacilles colorés en rose. Donc, nos souches d'*E. coli* sont à coloration du Gram négatif (Figure 9) :

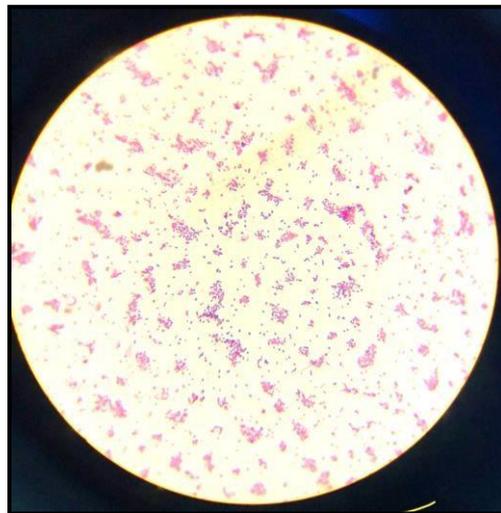


Figure 9 : Aspect microscopique d'*E. coli* sous microscope optique G×1000 (Originale, 2023)

On a confirmé la présence de 3 souches d'*E. coli* ce qui représente en taux de 33,33% sur la totalité des souches isolées par rapport à leur aspect morphologique (colonies rouge-violet dans 9 boîtes de pétri) et 23,07% par rapport à la totalité des échantillons examinées (13 échantillons) (Fig.14). Ces résultats montrent que notre matrice alimentaire qu'est la viande bovine hachée est contaminée par *E. coli*. Leur présence est un témoin sur le non-respect des règles d'hygiène (contamination fécale des produits) et l'absence de bonnes pratiques de fabrication et manipulation (Doutoum, 2002).

3. Résultat de staphylocoques à coagulase+

À partir de 13 échantillons, on a trouvé la présence de 4 souches de *S. aureus* dans 4 échantillons d'après les résultats obtenus.

3.1. Aspect macroscopique

Après l'incubation, seuls les échantillons 4,6, 8 et 10 ont montré des colonies typiques à *S. aureus*, qui représente les caractéristiques suivantes : des colonies dorées de taille moyenne entourés d'un auréole jaune, rondes, bombées, bords réguliers avec une surface lisse et crémeux (Figure 10) :



Figure 10 : Aspect macroscopique de *S. aureus* sur le milieu sélectif Chapman

(Originale, 2023)

L'acidification du milieu Chapman est dû à la capacité des souches de *S. aureus* de fermenter le mannitol et font virer l'indicateur coloré de pH (rouge de phénol) au jaune (Klooset Bannerman, 1999).

3.2. Résultat de l'identification biochimiques

Les résultats des tests biochimiques (catalase et coagulase) représentés dans les (Fig.11 et 12) permettent de confirmer la présence *S. aureus* au niveau des échantillons de la viande hachée analysés.

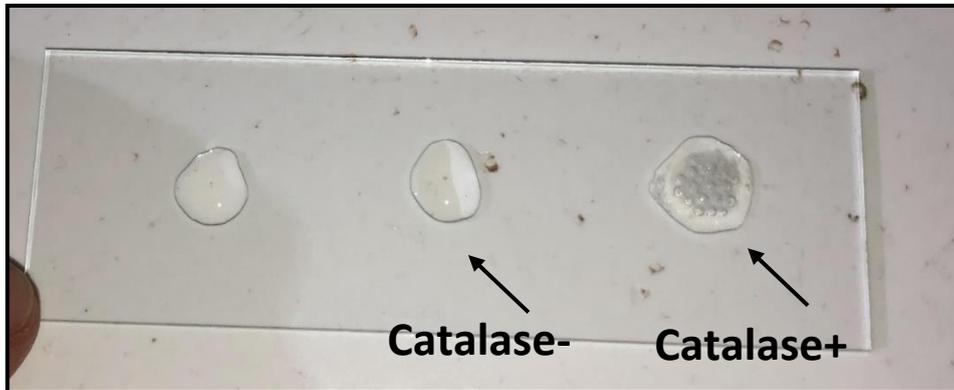


Figure 11 : *S. aureus* a catalase+ (Originale, 2023)

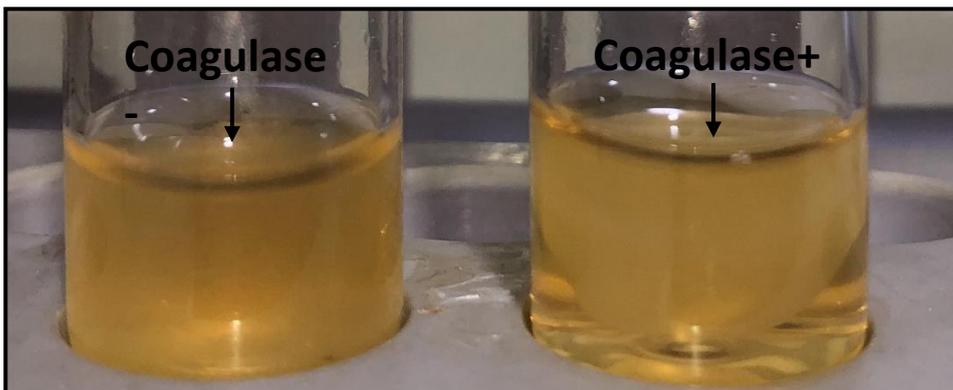


Figure 12 : *S. aureus* a coagulase+ (Originale, 2023)

3.3. Aspect microscopique

Après coloration du Gram, on a observé au microscope optique des cocci colorés en violette et groupés en amas (grappe de raisin). Donc, nos souches de *S. aureus* sont à coloration du Gram positif (Fig. 13) :

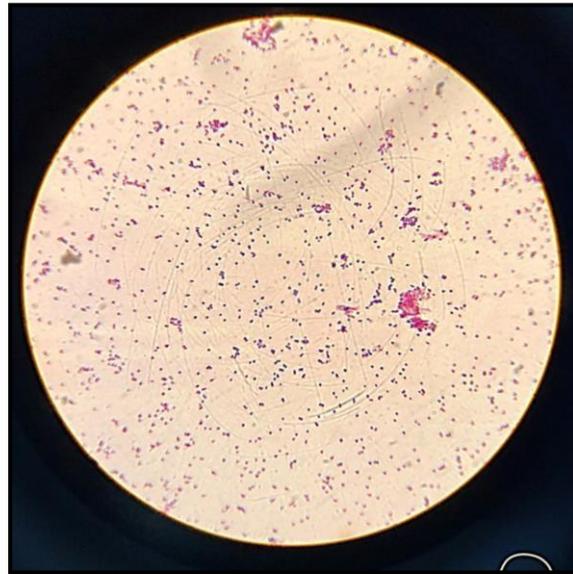


Figure 13 : Aspect microscopique de *S. aureus* sous microscope optique G×1000 (Originale, 2023)

On a confirmé la présence de 4 souches de *S. aureus* ce qui représente en taux de 33,33% sur la totalité des souches isolées par rapport à leur aspect morphologique (colonies dorés dans 12 boites de pétri) et 30,76% par rapport à la totalité des échantillons examinées (13 échantillons) (Fig.14). La présence de *S. aureus* dans certains échantillons de la viande hachée indique clairement de mauvaises pratiques d'hygiène, par exemple, un lavage des mains inadéquat. Car, Il est bien connu que la main humaine est un véhicule important pour la transmission des bactéries responsable sur l'intoxication alimentaire (Woh *et al.*, 2017).

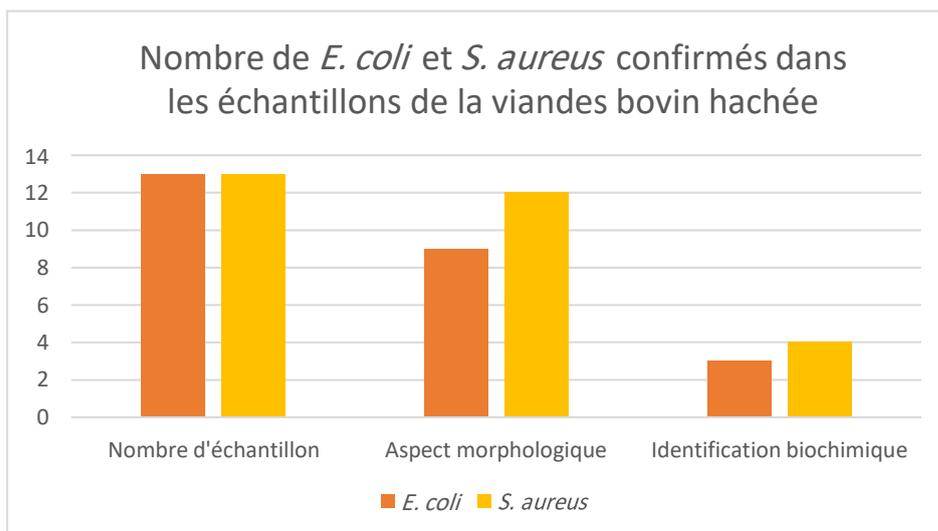


Figure 14 : Nombre de *E. coli* et *S. aureus* confirmées dans les échantillons de la viande

4. Résultat de *Salmonella*

Pour la *salmonella*, on a détecté l'absence totale de ce groupe microbien pathogène dans tous les échantillons. Ce résultat négatif est représenté par l'apparition des colonies non typiques sur le milieu d'isolement Hektoen.

5. Résultat de rendement de de trois extrais de *Lavandula stoechas*

Après avoir terminé le procédé d'extraction par macération, nous avons calculé le rendement d'extrait éthanolique, hydro-éthanolique et aqueux. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 04 :

Tableau 4 : Rendement de l'extrait éthanolique, hydro-éthanolique et aqueux de *L.stoechas*

Type d'extrait	Masse sèche de matière végétale (g)	Volume du solvant (ml)	Masse de l'extrait brut (g)	Rendement %
Extrait éthanolique	10	100	1,901	19,01%
Extrait hydro-éthanolique	10	100	1,503	15 ,03%
Extrait aqueux	10	100	1,004	10,04%

D'après les résultats présenter dans le tableau 04, nous constatons que le rendement le plus élevée de l'espèce *L. stoechas* est l'extrait éthanolique (19,01%), suivi par l'extrait hydro-éthanolique (15,03%) et enfin l'extrait aqueux (10,04%). D'après Seidel *et al.* (2006), les solvants alcooliques polaires permet d'extraire le maximum de composés bioactifs en raison de leur capacité à augmenter la perméabilité de la paroi cellulaire et donc, facilitant l'extraction de grandes quantités de métabolites bioactifs.

Selon les résultats de Giray *et al.* (2008), le rendement de l'extrait éthanolique des feuilles de *L. stoechas* (9,4%) est inférieur au rendement trouvé dans notre étude. Tandis que, le rendement de l'extrait éthanolique de *L. multifida* (1,06%) obtenus par Bouharb *et al.* (2014) est inférieur à celui obtenu dans notre expérience. Cette différence est due à diverses conditions comme : l'environnement, le génotype et l'origine géographique de la plante (Bachiri *et al.*, 2016).

En revanche, le rendement de notre extrait hydro-éthanolique de la partie aérienne de *L. stoechas* a été le même avec celle trouvée par Ez Zoubi *et al.* (2020) (10%) et supérieur au rendement trouvé par Samra *et al.* (2022) (8%) à partir des fleurs de *L. stoechas*. D'autre côté, selon les résultats obtenus par Bachiri *et al.* (2016), le rendement de l'extrait aqueux (13,4%) est supérieur au rendement trouvé dans notre étude.

L'extraction est l'un des étapes importantes afin d'obtenir un extrait brut du plant qui consiste à isoler et récupérer les substances phytochimiques des matières végétales. Leur efficacité dépend de la nature chimique des composants phytochimiques, la méthode d'extraction utilisée, la taille des particules d'échantillon et la nature du solvant (**Muhamed *et al.*, 2017 ; Do *et al.*, 2014**). Dans ce travail nous avons utilisé la méthode d'extraction solide – liquide (macération) qui est la plus couramment utilisée pour isoler les composés bioactifs comme les polyphénols avec un faible rendement d'extraction (**Zhang *et al.*, 2018 ; Boeing *et al.*, 2014**). Selon Bachiri *et al.* (2016) les résultats de rendement de l'extrait aqueux montrent que le mode d'extraction par infusion donne le meilleur rendement (18,4%), suivi par décoction (15,3%) et enfin macération (13,4%).

Le rendement de l'extraction varie selon : la nature de solvant et leur polarité, pH, la température d'extraction, l'espèce végétale et son contenu en métabolites secondaires (dépend des conditions physiologiques et écologiques de la plante), la durée de stockage et la période de récolte (**Doe *et al.*, 2014 ; Bachiri *et al.*, 2016 ; Haddouchi *et al.*, 2016**). Des études ont montré que l'extraction à température ambiante et sous agitation continue peut conduire à l'extraction du maximum des composés bioactifs et prévenir leur dégradation dont certains degrés de T° peuvent inhiber les composés de nature thermolabile comme les polyphénols et donc réduire leur rendement et leur qualité (**Lahmar *et al.*, 2017 ; Routray et Orsat, 2011 ; Wanget Weller, 2006**).

L'ensemble des facteurs cités ci-dessus peuvent conduire à une réduction très significative de composés bioactifs obtenus à partir de l'extraction et par conséquent affecter leurs activités biologiques (**Ouédraogo *et al.*, 2018 ; Bar *et al.*, 2022**).

6. Résultat de la détection des composées phénoliques

Dans ce travail, l'existence des composées phénoliques dans les trois extraits de *L. stoechas* a été vérifiée par le test préliminaire : réaction au FeCl₃. Les Résultats de ce test sont représentés dans le tableau 05 :

Tableau 5 : Mise en évidence des composées phénoliques de trois extraits de *L.stoechas*

Type d'extrait	Observation	Présence (+) / absence (-)	Résultats
Extrait éthanolique	couleur verte- noirâtre	+++	
Extrait hydroéthanolique	couleur verte- noirâtre	+++	
Extrait aqueux	couleur verte- noirâtre	++	

Légendes : (+) : présence moins importante ; (+++) : présence plus importante

L'essai phytochimique a permis de révéler la présence des composées phénoliques dans les trois extraits de *L. stoechas* via le test de FeCl₃ à travers l'apparition d'une couleur vert noirâtre. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Rahman *et al.* (2016) où l'étude phytochimique faite sur l'extrait aqueux et alcoolique de *L. stoechas* a donné un résultat positif pour les composées phénoliques.

7. Résultat de l'activité antibactérienne de trois extraits de *Lavandula stoechas*

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de trois extraits (E.éth ; E.hydro et E.Aq) préparés à partir de la partie aérienne de *L. stoechas* par la méthode de diffusion sur disque en Muller Hinton. L'activité antibactérienne de nos extraits a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition au tour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis deux

souches bactériennes de GP (*S. aureus*) et GN (*E. coli*) isolées à partir de la viande bovine hachée. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 06 et les figures 15 jusqu'à 20 :

Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne de trois extraits issus de *L. stoechas*

Type d'extrait (100mg/ml)	Volume (µl /disque)	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Éthanolique (N=3)	10	0,00	13,66±0,57
	15	4,66±4,04	16±1,00
	20	9,66±2,08	20,33±1,52
	25	18,33±0,57	28,66±0,57
Hydro-éthanolique (N=3)	10	0,00	10,33±2,30
	15	0,00	11,33±2,30
	20	0,00	16,66±3,05
	25	2,66±4,61	24,33±3,78
Aqueux (N=3)	10	0,00	0,00
	15	0,00	0,00
	20	0,00	0,00
	25	0,00	0,00
Antibiotique		C ₃₀ (s) = 28	GEN ₁₀ (s) = 35

Légendes : N : nombre des répétions ; C₃₀ : chloramphénicol (30µg/disc) ; GEN₁₀ : Gentamicine (10µg/disc)

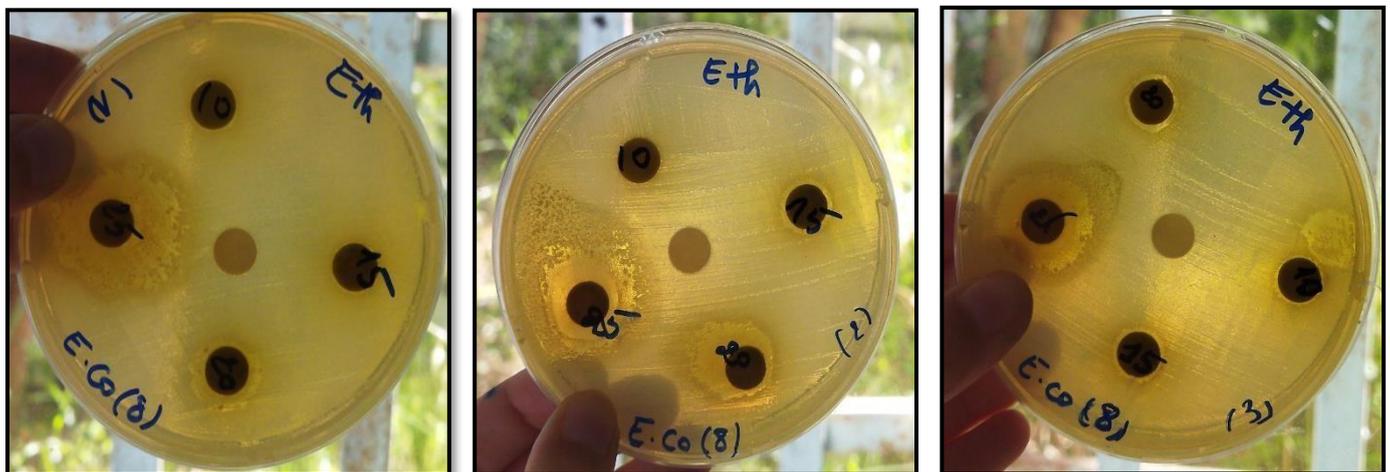


Figure 15 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait éthanolique de *L. stoechas* sur *E. coli* (Original, 2023)



Figure 16 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait hydro-éthanolique de *L. stoechas* sur *E. coli*
(Original, 2023)

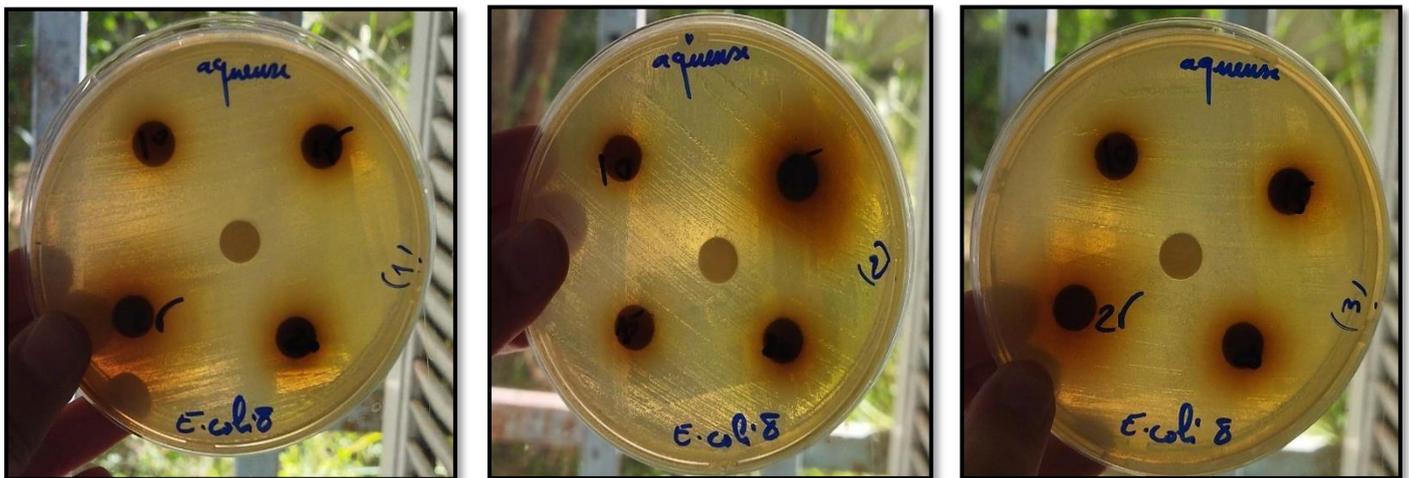


Figure 17 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux de *L. stoechas* sur *E. coli* (Original, 2023)



Figure 18 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait éthanolique de *L. stoechas* sur *S. aureus*
(Original, 2023)



Figure 19 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait hydro-éthanolique de *L. stoechas* sur *S. aureus*
(Original, 2023)



Figure 20 : Zones d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux de *L. stoechas* sur *S. aureus* (Original, 2023)

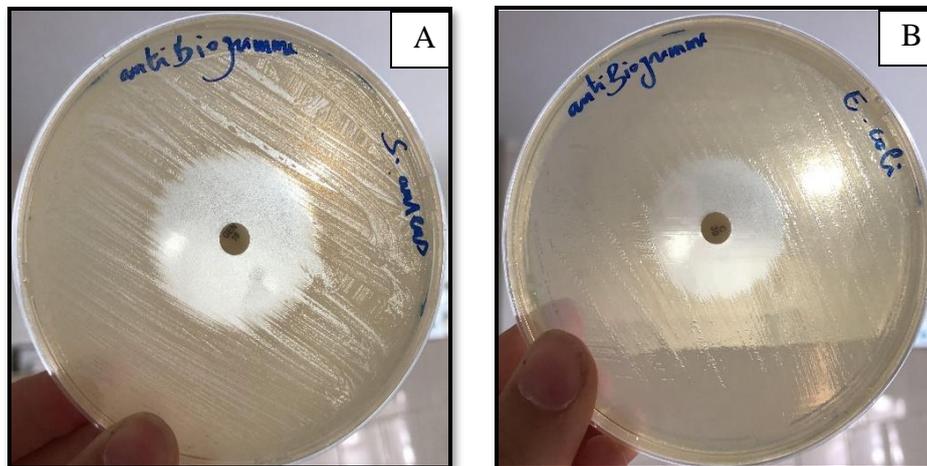


Figure 21 : Zones d'inhibition (mm) des témoins positifs : (A) : Gentamycine sur *S. aureus* et (B) : Chloramphénicol sur *E. coli* (Original, 2023)

D'après la recherche bibliographique disponible, il n'existe pas des travaux sur l'activité antibactérienne de *L. stoechas* sur la flore contaminant de la viande bovine hachée. Pour cela, les résultats de cette étude sont comparés à ceux obtenus pour cette plante et d'autres plantes du même genre sur les souches de références.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons constater que les souches bactériennes testées sont sensibles à l'extrait éthanolique et hydroéthanolique (*S. aureus*) mais résistant à l'extrait aqueux. le diamètre des zones d'inhibition augment en fonction des volumes des extraits de *L. stoechas* dont la plus grand zone d'inhibition marquée pour *E. coli* et *S. aureus* avec un volume de 25 μ l de l'extrait éthanolique est de $18,33 \pm 0,57$ mm et $28,66 \pm 0,57$ mm respectivement et de $24,33 \pm 3,78$ mm pour *S. aureus* avec le même volume de l'extrait hydro-éthanolique .

L'étude de Canli *et al.* (2019), a montré que l'extrait éthanolique de *L. stoechas* a une faible activité sur *E. coli* (ATCC 25922) avec un diamètre de $8,00 \pm 0,0$ mm qu'est inférieur à celle obtenu dans notre étude. Tandis que, l'effet inhibiteur le plus puissant a été observé sur *S. aureus* (ATCC 25923) dont la plus grande zone d'inhibition est de $18 \pm 0,0$ mm qu'est inférieur à notre résultat. En revanche, les résultats obtenus par Ez Zoubi *et al.* (2020), ont montré que l'extrait hydro-éthanolique de *L. stoechas* possède un faible effet sur *E. coli* (ATCC 25922) avec un diamètre de $8,34 \pm 0,8$ mm qu'est supérieur à notre résultat et une activité modérée contre *S. aureus* (ATCC 29213) avec un diamètre de $14,2 \pm 1,4$ mm qu'est inférieur à notre résultat.

Une étude menée par Boukada *et al.* (2023), a montré que l'extrait aqueux de *L. stoechas* ne possède aucun effet sur *E. coli* (ATCC 25922) ce qu'est en accord avec notre résultat. De plus, les résultats obtenus par Sriti *et al.* (2020), ont indiqué une faible activité de l'extrait aqueux sur *S. aureus* (ATCC 6835) avec un diamètre de 10 mm, tandis que, nous n'avons obtenu aucun résultat sur cette souche.

Cependant, l'inactivité de l'extrait aqueux présent dans notre étude, malgré la composition riche et importante des extraits aqueux de cette plante en composés phénoliques qui sont connus par leur activité antibactérienne comme indiquée dans l'étude de Bachiri *et al.* (2016) et Boufellous *et al.* (2017) est due à certains facteurs, tel que : la période de récolte, les conditions édaphoclimatiques, la méthode d'extraction, la composition chimique de la plante, le type de MO testés, le type de solvant et les conditions de réalisation du test (Obeidat *et al.*, 2012 ; Bachiri *et al.*, 2016).

Plusieurs études ont rapporté que l'extrait alcoolique et aqueux de *L. stoechas* sont caractérisés par de multiples activités biologiques, y compris : l'activité antibactérienne. Cette activité est liée généralement aux métabolites secondaires identifiées dans les extraits de *L. stoechas* principalement : les composés phénoliques (Ez Zoubi *et al.*, 2020). Selon Bachiri *et al.* (2016), le criblage phytochimique de la partie aérienne de *L. stoechas* à détecter la présence de nombreux composés chimiques responsable sur les activités biologiques de la plante, principalement les polyphénols, y compris : Tanins (Catéchiques et Galliques), les flavonoïdes (Anthocyanes et Flavones). Ainsi que la présence des d'autres métabolites secondaires principalement : les terpénoïdes (stérols et triterpènes) qu'ont une activité antibactérienne significatif.

Par ailleurs, une étude comparative a été faite avec les contrôles positifs à l'aide de deux antibiotiques, C₃₀ pour *E. coli* et GEN₁₀ pour *S. aureus*. D'après les résultats obtenus, nous pouvons dire que l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de *L. stoechas* possèdent un bon pouvoir antibactérien.

Le diamètre des zones d'inhibition est influencé principalement par nombreux facteurs, tels que : la période de récolte de la plante qui provoque des variations importantes dans leur composition chimique, la capacité de diffusion et solubilité de la substance testé (présent dans l'extrait de la plante) sur la gélose, la taille de disque de papier filtre ou puit, la quantité de composé antibactérien placé sur le disque, l'activité antimicrobienne de substance, la nature de la souche microbienne testé et leur croissance et métabolites sur le milieu, la durée et T° d'incubation, pH et épaisseur de gélose, la densité de l'inoculum et la concentration du composé antibactérienne dans l'extrait (**Herouini et al., 2015 ; Bubonja-Šonje et al., 2020; Horváth et al., 2016 ; Ellof, 2019 ; Carneiro et al., 2008**).

Les résultats de l'activité antibactérienne apparaissent que *S. aureus* (GP) est la bactérie la plus sensible aux extraits par rapport à *E. coli* (GN). Ceci peut être due à la différence dans la composition et structure de la paroi cellulaire de GP à celle de GN (**Wiciński et al., 2020**). D'après Koohsari et al. (2018) et Boukhatem et al. (2014) les bactéries à GP sont plus sensibles que les bactéries à GN, cela peut être dû à la nature de leur paroi qui bloque la pénétration facile des composés bioactifs (**Padalia et al., 2017**) et la composition chimique des plantes. En fait, les bactéries GP ont une couche de peptidoglycane très épais associée à des structures polyosidiques. En revanche, les bactéries GN ont une seule couche très fine de peptidoglycane associée à une membrane externe délimitant en espèce péri plasmique qui sont les raisons de leur résistance relative.

A partir de ces résultats, on peut conclure que les métabolites secondaires des plantes ayant des propriétés antibactériennes très importants en particulier : les différentes classes de polyphénols qui peuvent entraîner une augmentation de la toxicité des extraits envers les MO, ainsi que les terpénoïdes (**Cowan, 1999**). D'autre côté, l'effet antibactérienne des extraits des plantes riches en polyphénols peut être expliqué par divers modes d'actions, comme : changement morphologique des MO, endommager la paroi cellulaire, inhiber la synthèse de l'acide nucléique et formation du biofilm (**Efenberger-Szmechtyk et Czyzowska, 2020**). Enfin, l'efficacité optimale d'extrait de plante médicinale n'est pas probablement dû à un composant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés actifs de la plante (**Essawi et srour, 2000**).

8. Résultats de la CMI et CMB vis-à-vis les souches sensibles à l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de *Lavandula stoechas*

Après la mesure de la turbidité des tubes de CMI avant et après l'incubation, les résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) obtenus sont représentés dans le tableau 07 :

Tableau 7 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) del'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de *L. stoechas*

Extrait	Souche bactérien	Paramètres antibactérienne (mg/ml)	
		CMI	CMB
éthanolique	<i>E. coli</i>	12,5	25
	<i>S. aureus</i>	6,25	12,5
Hydro-éthanolique	<i>S. aureus</i>	12,5	25

L'analyse des résultats de la CMI (annexe VI) a permis de tracer les courbes de sensibilité de *E. coli* et *S. aureus* à extrait éthanolique et hydro-éthanolique de *L. stoechas* (pourcentage de survie des germes en fonction de la concentration du milieu en extrait) :

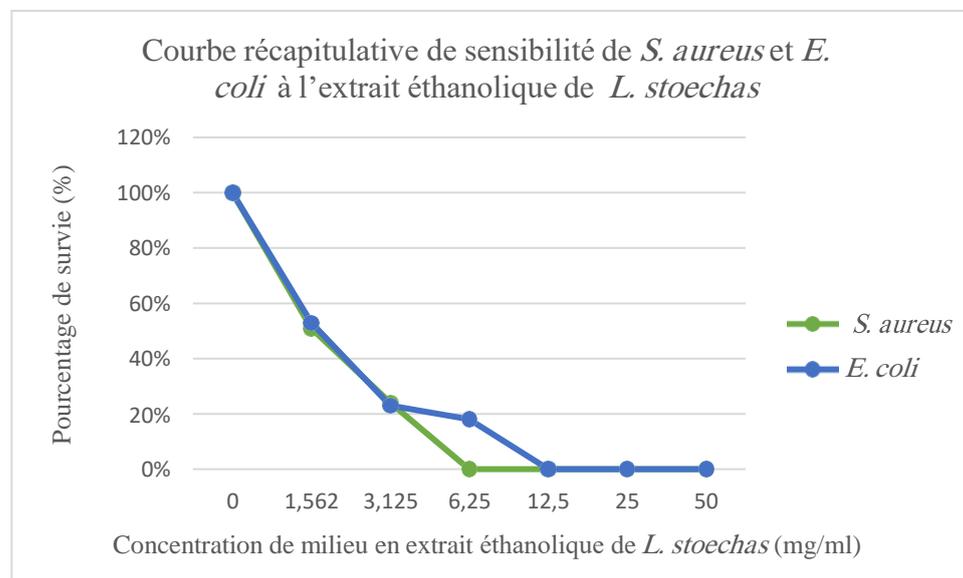


Figure 22 : Sensibilité d'*E. coli* et *S. aureus* aux différents concentrations de l'extrait éthanolique de *L.stoechas*

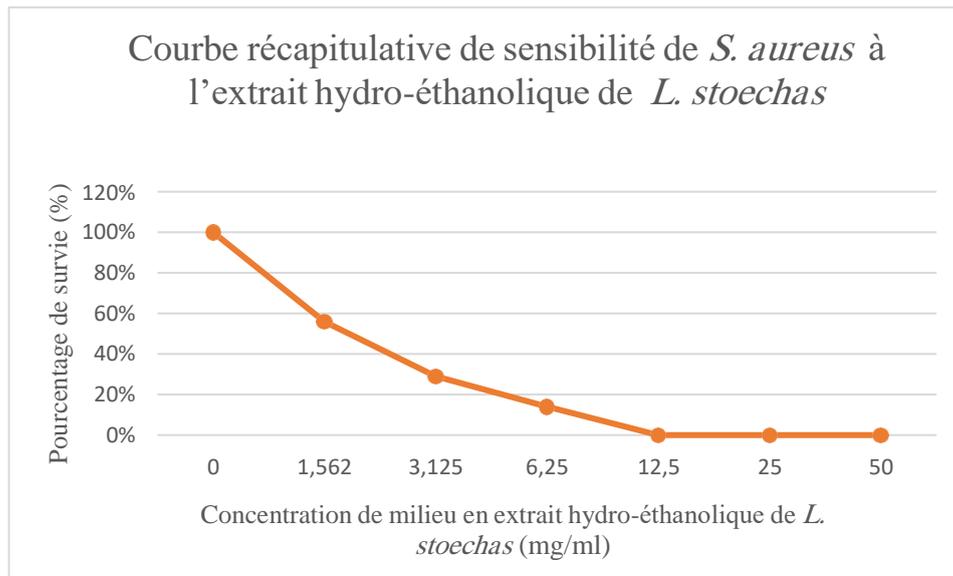


Figure 23 : sensibilité de *S. aureus* aux différentes concentrations de l'extrait hydro-éthanolique de *L. stoechas*

Nous avons remarqué à partir des résultats illustrés dans le tableau 07 que les valeurs de la CMI pour *E. coli* et *S. aureus* sont respectivement de 12,5 mg/ml (dilution 1/8) et de 6,25 mg/ml (dilution 1/16). Tandis que, les valeurs de la CMB étaient de 25 mg/ml (dilution 1/4) et 12,5 mg/ml. D'après les résultats obtenus par Ceyhan *et al.* (2012), nous constatons que la CMI de *E. coli* (O 157 : H7) est la même valeur avec celle obtenue dans notre étude (12,5 mg/ml), par contre, la CMI de *S. aureus* (ATCC6538P) est de l'ordre de 0,78 mg/ml qu'est inférieur à la CMI de notre souche testée. D'autre côté, selon les travaux de Ramadan *et al.* (2018), la CMI de l'extrait éthanolique de *L. dentata* sur *E. coli* (ATCC 25929) et *S. aureus* (ATCC 25923) est égale à 25 mg/ml pour les deux souches. Tandis que, leur CMB est de l'ordre de 50 mg/ml et 25 mg/ml respectivement.

Pour l'extrait-hydro-éthanolique, nous pouvons constater que CMI et CMB trouvée dans notre étude vis-à-vis de *S. aureus* sont respectivement de 12,5 mg/ml et de 25 mg/ml. Nous confortant nos résultats à ceux trouvés par Ez Zoubi *et al.* (2020), nous constatons que les valeurs de la CMI et CMB de notre étude sont à celui-ci trouvées par ces auteurs, dont les CMI et CMB étaient de l'ordre de 80 mg/ml et 160 mg/ml pour *S. aureus*.

La différence de la CMI et CMB des extraits est due à la variation de leurs constituants chimiques qui sont affectés par l'environnement d'où les échantillons des plantes ont été prélevés et nature et composition de la paroi cellulaire des MO testés (Ramdan *et al.*, 2018 ; Gonalimali *et al.*, 2018 ; Canli *et al.*, 2019).

9. Résultats du Rapport CMB/CMI l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de *Lavandula stoechas*

Après détermination de la CMI et CMB, Les résultats de CMB/CMI des extraits de *L. stoechas* sont représentés dans le tableau 8 :

Tableau 8 : Rapport CMB/CMI de l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de *L.stoechas*

Extrait	Souche bactérien	Rapport CMB/CMI	Effet d'extrait
éthanolique	<i>E. coli</i>	2	Bactéricide
	<i>S. aureus</i>	2	Bactéricide
Hydro-éthanolique	<i>S. aureus</i>	2	Bactéricide

Nous avons constaté à partir des résultats résumés dans le tableau 08, que l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique ont un effet bactéricide sur les souches testées dont le rapport CMB/CMI est égal à 2.

Les résultats obtenus par Ramadan *et al.* (2018), permet de constater l'effet bactéricide de l'extrait éthanolique de *L. dentata* sur *E. coli* et *S. aureus* avec un rapport de 2 et 1 respectivement. En revanche, les résultats d'Ez Zoubi *et al.* (2020), ont montré que l'extrait hydro-éthanolique de *L. stoechas* à un effet bactéricide sur les mêmes souches testées avec un rapport égal à 2.

Conclusion

Conclusion

Au cours de la dernière décennie, il y a un intérêt croissant pour les recherches sur la production des composées biologiquement actives à partir des sources naturelles comme les plantes aromatiques et médicinales qui fournissent un important source de substances phytochimiques bioactifs qu'ont de nombreuses applications comme une alternative naturelle dans plusieurs secteurs commerciaux tels que le domaine alimentaire grâce à leurs diverses activités biologiques y compris : l'activité antibactérienne. Pour cela, ce travail avait pour l'objectif d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne des différents extraits de *L. stoechas* sur les souches bactériennes contaminants isolées à partir de la viande bovine hachée.

Dans la présente étude, nous avons constaté à partir des résultats obtenus que la viande bovine hachée est contaminée par des souches bactériennes notamment *E. coli* et *S. aureus* avec un taux de 23,07% et 30,75% respectivement.

L'extraction éthanolique de *L. stoechas* a montré qu'elle possède le rendement le plus élevé (19,01%) par rapport l'extrait hydro-éthanolique (15,03%) et aqueux (10,04%). D'autre part, les résultats obtenus du test de FeCl₃ a permis de confirmer la richesse de *L. stoechas* en composées phénoliques.

Enfin, à partir des résultats de l'activité antibactérienne des extraits de *L. stoechas* vis-à-vis de deux souches bactériennes, nous avons constaté que l'extrait éthanolique de cette plante à le plus grand pouvoir antibactérien avec des zones d'inhibition de 18,33±0,57 mm pour *E. coli* et 28,66±0,57 mm pour *S. aureus*. Pour les deux autres extraits, l'extrait hydro-éthanolique à montrer une activité antibactérienne seulement sur *S. aureus* dont le diamètre de zone d'inhibition est de 24,33±3,78 mm avec une résistance totale de deux souches à l'extrait aqueux.

Afin d'approfondir ces résultats et d'établir de nouvelles approches sur cette plante, il serait intéressant de proposer certaines perspectives telles que :

- Faire une étude phytochimique approfondie sur la composition chimique des composants bioactifs des extraits et l'huile de *L. stoechas* dans le but de remplacer les conservateurs chimiques par ces conservateurs naturels qu'ont prouvé leur efficacité contre les différents agents responsables sur l'altération d'aliment.
- Tester le pouvoir antibactérien de *L. stoechas* sur d'autres matrices alimentaires.
- Évaluer l'activité antibactérienne de *L. stoechas* *in vitro* sur une gamme plus large de bactéries afin d'effectuer des tests comparatifs permettant de connaître le champ d'action de composées secondaires.

- Évaluer *in vitro* d'autres activités biologiques de *L. stoechas* telles que : activité antioxydante; antifongique; antiviral; anti-inflammatoire.
- Formulation de quelques médicaments à base de composants bioactifs de *L. stoechas* et tester leur efficacité dans le traitement des infections bactériennes de l'animale et les maladies infectieuses d'origine alimentaire.
- L'étude de l'effet synergétique des métabolites secondaires de *L. stoechas* avec les antibiotiques contre les bactéries multi résistantes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

(A)

- Akollor, E. (1997).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des chawarmas vendus dans les fastes Food de Daker. Thèse de docteur vétérinaire. *Université cheik Anta Diop de Daker*. N°22: 28
- Alauzet, C. (2009).** Taxonomie des bactéries anaérobies : de la reclassification a la découverte de nouveaux pathogènes. Thèse de doctorat en science génomique. *Université Henri Poincaré, Nancy I*. France: 106.
- Amiour, S. D., Alloui-Lombarkia, O., Bouhdjila, F., Ayachi, A et Hambaba, L. (2014).** Étude de l'implication des composés phénoliques des extraits de trois variétés de datte dans son activité antibactérienne. *Phytothérapie*. 12(2): 135-142. doi: [10.1007/s10298-014-0843-9](https://doi.org/10.1007/s10298-014-0843-9)

(B)

- Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibjijjen, J et Nassiri, L. (2016).** Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : « *Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L. ». *European Scientific Journal*. 12(30): 313-333. doi: 10.19044/esj.2016.v12n30p313.
- Bar, M., Binduga, U. E et Szychowski, K. A. (2022).** Methods of Isolation of Active Substances from Garlic (*Allium sativum* L.) and Its Impact on the Composition and Biological Properties of Garlic Extracts. *Antioxidants*. 11(7): 3-29. doi: 10.3390/antiox11071345.
- Benabdelkader, T. (2012).** Biodiversité, Bioactivité et Biosynthèse des Composés Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, *Lavandula stoechas* *Sensu Lato*, un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique. Thèse docteur en Biologie et Écophysiologie végétale. *Université Jean Monnet - Saint-Etienne (France) & École normale supérieur de Kouba (Alger)* : 58-79.

- Bensid, A. (2018).** Hygiène et inspection des viandes rouges. 1^{er} édition. *El Djelfa Info édition*. Djelfa: 67. ISBN : 9931943831.
- Boeing, J. S., Barizão, É. O., e Silva, B. C., Montanher, P. F., de Cinque Almeida, V et Visentainer, J. V. (2014).** Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. *Chemistry Central Journal*. 8(1): 1-9. doi:10.1186/s13065-014-0048-1.
- Bohui, P. SG., Amissa Adima, A., Niamké, F. B et N'Guessan, J. D. (2018).** Étude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*. 46: 52.
- Bolou, E. K., Attioua, B., N'Guessan, A. C., Coulibaly, A., N'Guessan, J. D et Djaman, A. J. (2011).** Évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. Sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 80: 772 – 790.
- Bocan, D. A. T., Tsang, S. S. K., Li, C., Lee, I. H. T., Lam, H. M., Chan, T. F et Hui, J. H. L. (2020).** Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. *International Journal of Molecular sciences*. 21(9). doi: 10.3390/ijms21197382.
- Boufellous, M., Lrhorfi, A. L., Berrani, A., EL Haoud, H., Zaher, A., Bouhaddioui, B et Bengueddour, R. (2017).** Phytochemical screening of a medicinal plant: *Lavandula stoechas* (Lamiaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(2): 56-62.
- Bouharb, H., El Badaoui, K., Zair, T., El amri, J., Chakir, S et Alaoui, T. (2014).** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences*. 78(1): 6685-6693. doi:10.4314/jab.v78i1.3
- Boukhada, F., Meddah, B., Soltani, F. Z et Sitayeb, S. (2023).** Efficacy of the Crude Extract and Solvent Fractions of *Lavandula stoechas* L. for Potential Antibacterial and Antioxidant Capacity: An Endemic Medicinal Plant from Algeria. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 88(1): 29-36.

- Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A.K., Saidi, F., Taibi, H et Teffahi, D. (2014).** Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 8(4): 1418-1431.
- Boussena, S. (2019).** Manuel des travaux pratiques de Bactériologie. *Université des frères Mentouri*: 45-46.
- Brigitte, M. B., Brigiet, V. B et Corlien, H. (2005).** La conservation du poisson et de la viande. 2^{ème} édition. *Fondation Agromisa*. Wageningen : 11-12. ISBN : 90-8573-033-3.
- Brown, L., Wolf, J. M., Prados-Rosaler, R et Casadevall, A. (2015).** Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. *Nature reviews Microbiology*. 13(10): 621-622. doi: 10.1038/nrmicro3480.
- Bubonja-Šonje, M., Knežević, S et Abram M. (2020).** Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant-derived polyphenolic compounds. *Arh Hig Rada Toksikol*. 71(4) : 300-311. doi: 10.2478/aiht-2020-71-3396.

(C)

- Camila, S. C et Marco, A. (2018).** A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. *International Journal of Dairy Technology*. 71(3): 564-578. doi: <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12515>.
- Canli, K., Yetgin, A., Benek, A., Bozyel, M. E et Murat Altuner, E. (2019).** *In Vitro* Antimicrobial Activity Screening of Ethanol Extract of *Lavandula stoechas* and Investigation of Its Biochemical Composition. *Adv Pharmacol Sci*: 1-6. doi: 10.1155/2019/3201458.
- Canli, K., Yetgin, A., Benek, A., Bozyel, M. E et Murat Altuner, E. (2019).** *In Vitro* Antimicrobial Activity Screening of Ethanol Extract of *Lavandula stoechas* and Investigation of Its Biochemical Composition. *Adv Pharmacol Sci*: 1-6. doi: 10.1155/2019/3201458.
- Carneiro, A. L. B., Teixeira, M. F. S., Oliveira, V. M. A. de, Fernandes, O. C. C., Cauper, G. S. de B et Pohlit, A. M. (2008).** Screening of Amazonian plants from the Adolpho Ducke forest reserve, Manaus, state of Amazonas, Brazil, for antimicrobial activity. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*. 103(1): 31–38. doi:10.1590/s0074-02762008000100005.

Ceyhan, N., Keskin, D et Uğur, A. (2012). Antimicrobial activities of different extracts of eight plant species from four different family against some pathogenic microorganisms. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 10(1): 193-197.

Chabrier, J. Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de docteur en pharmacie. *Université Henri Poincaré, Nancy I*. France: 106.

Cho, K. S., Lim, Y., Lee, K., Lee, J., Lee, J. H et Lee, I.S. (2017). Terpenes from Forests and Human Health. *Toxicological Research*. 33(2): 97–98. doi:10.5487/tr.2017.33.2.097.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 12(4): 564-82. doi: 10.1128/CMR.12.4.564.

(D)

Dennai, N., Kharrattib, B et El Yachiouim, A. (2001). Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus. *Annales de Médecine Vétérinaire*. 14: 270-274.

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S et Ju, Y.H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22(3) : 296–302. doi: 10.1016/j.jfda.2013.11.001.

Doutoum, A. A. (2002). Étude comparative de la fertilité de deux milieux de culture d'origine différent, utiliser pour la recherche des coliformes thermo tolérantes dans les filets de poisson congelés. Mémoire en production animale. *Université de Cheik Anta Diop de Dakar et école inter-états des sciences et médecine vétérinaires*. Sénégal: 12-25.

(E)

Efenberger-Szmechtyk, M., Nowak, A et Czyzowska, A. (2020). Plant extracts rich in polyphenols: antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 61(1): 149–178. doi:10.1080/10408398.2020.1722060

- El-Anzi, O. (2014).** Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées au centre hospitalier Ibn Sina de Rabat. Thèse de Doctorat en médecine. *Université Mohamed V & Faculté de médecine et de pharmacie*. Maroc: 146.
- Eloff, J. N. (2019).** Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. *BMC Complement Altern Med.* 19(1):1-8. doi: 10.1186/s12906-019-2519-3.
- Épouse Sy, M. K. (2006).** Évolution de la flore bactérienne des viandes de bœuf hachées au cours d'un stockage réfrigère. Mémoire en production animale. *Université de Cheik Anta Diopde Dakar et école inter-états des sciences et médecine vétérinaires*. Sénégal: 21.
- Erb, M et Kliebenstein, D. J. (2020).** Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. *Plant Physiol.* 184(1):39-52. doi: 10.1104/pp.20.00433.
- Escribano-Bailon, M. T et Santos-Buelga, C. (2003).** Polyphenol Extraction from Foods. In: *Methods in Polyphenol Analysis*. 1^{er} édition. *Royal Society of Chemistry*. London: 1-12. ISBN:0-85404-580-5.
- Essawi, T et Srour, M. (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol.* 70(3): 343-349. doi: 10.1016/s0378-8741(99)00187-7.
- Estevinho, M. L., Afonso, S. E et Feás, X. (2011).** Antifungal effect of lavender honey against *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Food Science and Technol.* 48(5): 640. doi : <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0243-1>.
- Ez zoubi, Y., Bousta, D et Farah, A. (2022).** A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L. *clinical phytoscience.* 6 (9): 2 - 3. doi: <https://doi.org/10.1186/s40816-019-0142-y>
- Ez zoubi, Y., Bousta, D et Farah, A. (2022).** A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L. *clinical phytoscience.* 6 (9): 2 - 3. doi: <https://doi.org/10.1186/s40816-019-0142-y>.
- Ez zoubi, Y., Bousta, D., El Mansouri, L., Boukhira, S., Siham, L., Achour, S et Farah A. (2016).** Phytochemical screening, anti-inflammatory activity and acute toxicity of hydro-ethanolic, flavonoid, Tannin and Mucilage Extracts of *Lavandula stoechas* L from Morocco. *Int J Pharmacognosy Phytochem Res.* 8(1): 31-37.

Ez zoubi, Y., Bousta, D et Farah, A. (2022). A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L. *clinical phytoscience*. 6(9): 2 - 3. doi: <https://doi.org/10.1186/s40816-019-0142-y>

Ez zoubi, Y., Farah, A., Zaroual, H et El Ouali Lalami, A. (2020). Antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* phenolic extracts against pathogenic bacteria isolated from a hospital in Morocco. *Vegetos* :703-711. doi:10.1007/s42535-020-00160-3 .

(F)

FAO. (1994). Abattage, découpe de la viande et traitement ultérieur. 1^{er} édition. *Organisation des nations unies pour alimentation et l'agriculture*. Roma: 51-79.

Fertout-Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., et Bengherraz, Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*. 85: 253-262.

(G)

Ghafir, Y et Daube, G. (2007). Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. *Annales de Médecine Vétérinaire*. 151 : 79-100.

Giray, E. S., Kirici, S., Kaya, D. A., Türk, M., Sönmez, O et Inan, M. (2008). Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*. 74(4):930-935. doi: 10.1016/j.talanta.2007.07.040.

Gonelimali, F. D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M et Hatab, S. R. (2018). Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*. 9: 1- 9. doi:10.3389/fmicb.2018.01639.

(H)

- Haddouchi, F., Chaouche, T. M et Halla, N. (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie* :1-9. doi: [10.1007/s10298-016-1086-8](https://doi.org/10.1007/s10298-016-1086-8).
- Haddouchi, F., Zerhouni, K., Sidi-Yekhelef, A et Chaouche, T. M. (2016).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *Rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 85: 152 – 159.
- Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. 68: 2831-2846. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.09.017>.
- Herouini, A., Kemassi, A et Ould El Hadj, M.D. (2015).** Etude de l'activité biologique des extraits aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Euphorbiaceae) récoltée dans Oued Sebseb (Sahara Algérien). *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes*. 8(2): 15 – 25. doi: [10.54246/1548-008-002-028](https://doi.org/10.54246/1548-008-002-028).
- Honikel, K. O. (2014).** Minced Meats. In: Encyclopedia of Meat science. *Elsevier Ltd*. 2: 422-424. doi:[10.1016/B978-0-12-384731-7.00240-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00240-3).
- Horváth, G., Bencsik, T., Ács, K et Kocsis, B. (2016).** Sensitivity of ESBL-Producing Gram-Negative Bacteria to Essential Oils, Plant Extracts, and Their Isolated Compounds. *Antibiotic Resistance* : 239–269. doi:[10.1016/b978-0-12-803642-6.00012-5](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803642-6.00012-5).

(J)

- James, S. J et James, C. (2000).** Microbiology of refrigerated meat. In: Meat Refrigeration. 1^{er} édition. *Wood head publishing limited and CRC press LLC*. Cambridge, England: 3-19. ISBN: 9781855736535
- Joffin, C et Joffin, J. N. (2010).** Fiches techniques spécifiques. In : Microbiologie alimentaire. 6^{ème} édition. *Canopé - CRDP de Bordeaux édition*. France: 229-305. ISBN : 2866173422.

Journal officiel de république algérien. (2013). Méthodes officielles d'analyses relatives à la microbiologie des aliments : méthodes horizontales. *Direction des Laboratoires d'Essais et d'Analyses de la Qualité*:11.

Jouve, J. L. (1996). La qualité microbiologique des alimente. Maître et critères. 2^{ème} édition. *Polytechnica Editions*. Paris, France: 186-354. ISBN : 284054010x.

Justin, N. K., Edmond, S., Ally, R. M et Xin, H. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2: 377-392.

(K)

Kloos, W. E et Bannerman, T. L. (1999). *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Manual of clinical microbiology. 7^{ème} édition. *American Society for Microbiology*. Washington: 264–282.

Koffi, A. E., Obouayeba, P. A., Akre, D. S-T., Kouadio, L. M., Sakirigui, A., Ehouman, A.M et Ackah, J. A. (2021). *Euphorbia hirta* Linn (Euphorbiaceae), une espèce végétale prometteuse pour combattre les dysenteries bacillaires: expérimentations *in vitro* en Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 15(4): 1445-1456. doi: [10.4314/ijbcs.v15i4.12](https://doi.org/10.4314/ijbcs.v15i4.12).

Koohsari, H., Ghaemi, E. A., Sadegh Sheshpoli, M., Jahedi, M et Zahiri, M. (2015). The investigation of antibacterial activity of selected native plants from North of Iran. *J Med Life*. 8(2): 38-42.

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat en écologie et chimie des substances naturelles. *Muséum National d'histoire Naturelle*. Paris:17.

(L)

- Lahmar, I., Belghith, H., Ben Abdallah, F et Belghith, K. (2017).** Nutritional Composition and Phytochemical, Antioxidative, and Antifungal Activities of *Pergularia tomentosa* L. *BioMed Research International*:1–9. doi:10.1155/2017/6903817.
- Lakey-Beitia, J., Burilla, A. M., La Penna, G., Hegde, L. M et Roa, K. S. (2021).** Polyphenols as Potential Metal Chelation Compounds against Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 28: 03-11. doi :10.3233/JAD-200185.
- Lemaire, J. R. (1982).** Les opérations de préparations des viandes. In : hygiène et technologie de la viande fraîche. *CNRS éditions*. Paris, France: 57-76. ISBN : 978-2-222-02953-3
- Leo, M. L et Nollet, F. T. (2006).** Advanced technologies for processing. 1^{er} édition. *CRC press édition*. États-Unis : 77. ISBN: 1574445871.
- Leyeral, G et Vierling, E. (2007).** Physiologie du monde bactérien. In Microbiologie et Toxicologie des Aliments : Hygiène et Sécurité Alimentaire. Sciences des Aliments. 4^{ème} édition. *Rueil-Malmaison Doin édition*. Bordeaux CRDP d'Aquitaine : 37-66. ISBN: 978-2-7040-1233-6.
- Loannis, K. K., Vassilios, K. K et Kyriakos, A. R. (2019).** Physico-Chemical Parameters, Phenolic Profile, In Vitro Antioxidant Activity and Volatile Compounds of *Ladastacho (Lavandula stoechas)* from the Region of Saidona. *Antioxidants*. 8(4): 2 – 16. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox8040080>
- Lojkowska, E et Holubowska, M. (1992).** The role of polyphenol oxidase and peroxidase in potato tuber resistance to soft rot caused by *Erwinia carotovora*. *Journal of Phytopathology*. 136: 319-328. doi : <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1992.tb01314.x>.

(M)

- Madani, N et Zaidi, N. (2019).** Effets antimicrobiens de l'extrait aqueux de Miswak (*Salvadora Persica*) chez *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*. Mémoire en Microbiologie fondamentale. *Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem*: 29.
- Maillot, H. (1985).** Les toxi-infections alimentaires par les produits laitiers. Thèse en docteur vétérinaire. *ENVT école national vétérinaire de Toulouse*. France: 99.

- Makarewicz, M., Drozd, I., Tarko, T et Duda-Chodak, A. (2021).** The Interactions between Polyphenols and Microorganisms, Especially Gut Microbiota. *Antioxidants*. 10(188): 20-34. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox10020188>.
- Malecky, M. (2008).** Métabolismes des Terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat en Physiologie de la Nutrition Animale. *Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech)*. Paris: 13-20
- Marianne, D. M et Jeffrey, W. B. (2003).** Foodborne Bacteria: Established Bacterial Pathogens. In: International Handbook of Foodborne Pathogens. 1^{er} edition. *Marcel Dekker, Inc.* New York :53-156. : ISBN :0-8247-0685-4.
- Marianne, D. M et Jeffrey, W. B. (2003).** Foodborne Bacteria: Established Bacterial Pathogens. In: International Handbook of Foodborne Pathogens. 1^{er} edition. *Marcel Dekker, Inc.* New York: 53-156. ISBN: 0-8247-0685-4.
- Mazieres, J., Richard, B et Mazieres, S. (1980).** Une méthode de recherche rapide des coliformes fécaux dans les eaux de mer et les coquillages. *Revue des travaux de l'institut des pêches maritimes*. 44(3): 289-293.
- Miralpeix, B., Rischer, H., Häkkinen, S.T., Ritala, A., Seppänen-Laakso, T., Oksman-Caldentey, K. M., Capell, T et Christou, P. (2013).** Metabolic engineering of plant secondary products: which way forward?. *Curr Pharm Des*. 19(31): 5622-5639. doi: 10.2174/1381612811319310016.
- Mogue, I., Bayaga, H., Tembe Fokunang, E., Njinkio Nono, B., Tamanji, V., YvesOngba, T., Ngoni Mballa, R., Gonsu Kamga, H., Mbacham Fon, W., & Fokunang Ntungwen, C. (2021).** Étude Phytochimique et Évaluation de l'Activité Anti Salmonella Typhi des Extraits de Combretum Micranthum (Combrétaceae). *Health Sciences and Disease*. 22(6): 1-6.
- Mohammedi, Z. (2005).** Étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère en Biologie. *Université Abou Bakr Belkaïd*. Tlemcen : 48.
- Moroh, J. L., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y, G et Gueda-Guina, F. (2008).** Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance *in-vitro* des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 77 : 44-61.

Mosunova, O., Navarro-Munoz, J. C et Collemare, J. (2021). The Biosynthesis of Fungal Secondary Metabolites: From Fundamentals to Biotechnological Applications. *Encyclopedia of Mycology*. 2: 458-476. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.21072-8>.

Muhamad, I. I., Hassan, N. D., Mamat, S. N. H., Nawi, N. M., Rashid, W. A et Tan, N. A. (2017). Extraction Technologies and Solvents of Phytochemicals From Plant Materials : Physicochemical Characterization and Identification of Ingredients and Bioactive Compounds From Plant Extract Using Various Instrumentations. *Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food*: 523–560. doi:10.1016/b978-0-12-811521-3.00014-4.

(N)

Narasimha Rao, D et Ramesh, B. S. (1988). Microbial profiles of minced meat. In: Meat science. *Elsevier Ltd*. 23(4): 279-280. doi: [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(88\)90012-5](https://doi.org/10.1016/0309-1740(88)90012-5).

Norme EN en ISO 12824. (2000). Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des Salmonella (Indice de classement : V 08-034).

Norme NF EN ISO 6887-2. (2004). Microbiologie des aliments. Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique. Partie 2: règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande (Indice de classement : V08-010-2).

Norme NF EN ISO 6887-2. (2004). Microbiologie des aliments. Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique. Partie 2: règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande (Indice de classement : V08-010-2).

(O)

Obeidat, M., Shatnawi, M., Al-alawi, M., Al-Zu'bi, E., Al-Dmoor, H., Al-Qudah, M., El-Qudah, J et Otri, I. (2012). Antimicrobial activity of Crude extracts of some plant leaves. *Research Journal of Microbiology*. 7(1):59-67.

Ouédraogo, H., Ouattara, L., Ouoba, P., Bonzi, S. & Somda, I. (2018). Évaluation de l'activité antifongique et de la phytotoxicité de *Isobertia doka* Craib & Staff. *European Scientific Journal*. 14(30) : 213-227. doi: 10.19044/esj.2018.v14n30p213.

Oumokhtar, B., Berraa, H., Ameer, N et El Fakir, S. (2008). Analyse microbiologique de la viande hachée bovine commercialisée à Fes, Maroc. *Les technologies de laboratoires*. 12 : 4- 10.

(P)

Padalia, H., Rathod, T et Chanda, S. (2017). Evolution of antimicrobial potential of different solvent extracts of some medicinal plants of semi-arid region. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 10(11): 295-299.

Paduch, R., Kandefler-Szerszeń, M., Trytek, M et Fiedurek, J. (2007). Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 55(5): 315–327. doi:10.1007/s00005-007-0039-1.

Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V et Stefan, G. (2017). Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16(6): 14-21. doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12298>.

Pasachova, G., Ramirez, M et Munoz, M. (2019). *Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular*. NOVA .17(32) : 25-38. doi : <https://doi.org/10.25058/24629448.3631>.

Pepiniere-bretagne.fr. Consulté le : 16/03/2023. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.pepiniere-bretagne.fr/bienvenue.php>

Perveen, S. (2018). Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids. *IntechOpen*: 1-12. doi: 10.5772/intechopen.79683.

Purnell, G. (2013). Robotics and automation in meat processing. *Wood head publishing*: 320. doi: 10.1533/9780857095763.2.304.

(R)

- Rahman, A., Siddiqui, M. Z., Qasmi, I. A et Khan, M. I. (2016).** Physicochemical standardization of ustukhudoos (*Lavandula stoechas* Linn) - a anti drug. *Pharmacophore*. 7(5):288-294.
- Rajeev, K.S., Ashok, K.D., Arun, G., Ramesh, K.S., Marco, F., Sara, M.A., Moawiya, A et Masnat, A. (2019).** Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. *Journal of AOAC International*. 102(5): 1397-1400.doi: <https://doi.org/10.1093/jaoac/102.5.1397>.
- Ramdan, B., El Malki, F., Eddarraji, K., Greche, H et Nhiri, M. (2018).** Composition and Antibacterial Activity of Hydro-Alcohol and Aqueous Extracts Obtained from the *Lamiaceae* Family. *Pharmacogn J*. 10(1): 81-91.
- Ratsimba, A. I. (2017).** Évaluation et réingénierie des procédés de fabrication traditionnelle de kitoza. Thèse de doctorat en Biodiversité et Santé. *Université d'Antananarivo*: 01.
- République français. (2015).** Spécification technique applicable aux viandes hachées et aux préparations produits à partir de viandes hachées d'animaux de boucherie. *Direction des affaires juridiques*: 05.
- Robert, D. (2013).** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrépar l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse de Doctorat en pharmacie. *Université angers*. France:115.
- Routray, W et Orsat, V. (2011).** Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review. *Food and Bioprocess Technology*. 5(2): 409–424. doi:10.1007/s11947-011-0573-z.

(S)

- Salifou, F. A., Boko, K. C., Ahounou, G. S., Tougan, P. U., Kassa, S. K., Houga, I., Farougou, S., Mensah, G. A., Clinquart, A et Youssao, K. I. (2013).** Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 7(3): 1351-1369. doi: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v7i3.41>

Samra, I., Dildar, A et Hira, K. (2022). Flavonoids, Phenolics and Acetylcholinesterase Inhibitory Potential of Different Solvent Extracts of some Medicinal Plants used as Brain Tonics: A Comparative Study. *Journal of Medicinal Plants and By-products*. 1: 119-127.

Sanogo, Y., Guessennd, N. K., Tra Bi, H. F., Kouadio, N. J., Konan, F. K., Bamba, M., Danho, N., Bakayoko, A., Yao, K et Dosso, M. (2016). Evaluation in vitro de l'activité des écorces de tige de *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. et Perr. (Combretaceae) sur des bactéries responsables de maladies courantes en Afrique et criblage phytochimique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 10(3): 1139-1152. doi:10.4314/ijbcs.v10i3.19

Sarkic, A et Stappen, I. (2018). Essential oils and their single compounds in cosmetics_ A critical Review. *Cosmetics*. 5 (11): 01. doi: <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010011>

Scalbert, A et Williamson, G. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *The Journal of Nutrition*. 130(8): 2073-2085. doi : <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2073S>

Seidel, V. (2006). Initial and Bulk Extraction. *Natural Products Isolation*: 27–46. doi:10.1385/1-59259-955-9:27

Sharma, A. K. (2019). Anticancer Alkaloids: Molecular Mechanisms and Clinical Manifestations. In *Bioactive Natural Products for the Management of Cancer: from Bench to Bedside*. 1^{er} édition. *Springer Nature Singapore*. Singapore: 1-35. doi: <https://doi.org/10.1007/978-981-13-7607-8>. ISBN: 978-981-13-7606-1.

Sriti, J., Fares, N., Msaada, K., Zarroug, Y., Boulares, M., Djebbi, S., Selmi, S et Limam, F. (2022). Phenological stage effect on phenolic composition, antioxidant, and antibacterial activity of *Lavandula stoechas* extract. *la rivista italiana delle sostanze grasse*: 225-234.

(T)

Templer, R. (2004). Cutting and Boning / Robotics and new technology. In: *Encyclopedia of Meat science*. *Elsevier Ltd*: 381. doi: <https://doi.org/10.1016/B0-12-464970-X/00197-5>.

Tonny, K., Peter, Y., Michael, B., Patrick, O., Bart, V.S et Christophe, S. (2023). Efficacy

of Dietary Polyphenols from Whole Foods and Purified Food Polyphenol Extracts in Optimizing Cardiometabolic Health: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Advances in Nutrition*. 14 (2): 270 – 282. doi: <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2023.01.002>.

Toty, A. A., Guessennd, N., Bahi, C., Kra, A. M., Otokore, D. A et Dosso, M. (2013). Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 82: 12 – 21.

(V)

Valeria, T., Isabella, G., Rosa, A. M., Valentina, D. N., Riccardo, F., Mirko, D. R., Maria, P. S., Nicoletta, D., Elisabetta, F., Maria, G. C et Maria, N. (2020). Flavonoid and Non-Flavonoid Compounds of Autumn Royal and Egnatia Grape Skin Extracts Affect Membrane PUFA's Profile and Cell Morphology in Human Colon Cancer Cell Lines. *Molecules*. 25(15): 3352. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25153352>

(W)

Waithaka, P. N., Gathuru, E. M., Githaiga, B. M et Kwoko, J. M. (2016). Making of Perfumes from Essential Oils Extracted from Lavender Plant Collected from Egerton University, Main Campus Njoro, Kenya. *Pyrex journal of Biomedical Research*. 2 (6): 35.

Wang, L et Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*. 17(6): 300–312. doi:10.1016/j.tifs.2005.12.004

Wells, R., Truong, F., Adal, A, M., Sarker, L. S et Mahmoud, S. S. (2018). *Lavandula* Essential Oils: A Current Review of Applications in Medicinal, Food, and Cosmetic Industries of Lavender. *Natural production communications*. 13 (10): 1410. doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X1801301038>

Wen, X., Liang, C., Zhang, D., Li, X., Chen, L., Zheng, X., Fang, F., Cheng, Z., Wang, D et Hou, C. (2022). Effects of hot and cold Boning on the freshness and bacterial community changes of lamb cuts during chilled storage. *Institute of Technology*. 170: 1. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114063>.

Wiciński, M., Gębalski, J., Mazurek, E., Podhorecka, M., Śniegocki, M., Szychta, P., Sawicka, E et Malinowski, B. (2020). The Influence of Polyphenol Compounds on Human Gastrointestinal Tract Microbiota. *Nutrients*. 12(2):1-14. doi: 10.3390/nu12020350.

Woh, P. Y., Thong, K. L., Lim, Y. A. L., Behnke, J. M., Lewis, J. Wet Mohd Zain, S. N. (2017). Microorganisms as an Indicator of Hygiene Status Among Migrant Food Handlers in Peninsular Malaysia. *Asia Pacific Journal of Public Health*. 29(7): 599–607. doi:10.1177/1010539517735856.

(Z)

Zaatou, N. (2022). An overview on mastitis-associated *Escherichia coli*: Pathogenicity, host immunity and the use of alternative therapies. *Microbiological Research*. 256: 1-14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126960>

Zenk, M. H et Juenger, M. (2007). Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*. 68(22-24): 2757–2772. doi: 10.1016/j.phytochem.2007.07.009.

Zhang, Q. W., Lin, L. G et Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*. 13(1): 1-26. doi:10.1186/s13020-018-0177-x

Ziegler, J et Facchini, P. J. (2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking. *Annual Review of Plant Biology*. 59(1): 735–769. doi : 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092730.

Annexe

Annexe I

Tableau I : Liste de matériel et produits utilisés dans la partie expérimentale

Milieux de culture et bouillons	Réactifs et colorants	Verreries et appareils	Solution	Autres
<ul style="list-style-type: none"> -Gélose VRBLA -Gélose PCA -Gélose Chapman -Gélose Hektoen -Gélose Mueller Hinton -Gélose nutritive -Bouillon BHIB -Bouillon Mueller Hinton -Bouillon TSE -Bouillon Giolitti Cantoni -Bouillon Schubert 	<ul style="list-style-type: none"> -Chlorure ferrique (FeCl₃) -Indole de Kovacs -Tellurite de potassium -Colorant Violet de Gentiane -Colorant de Fuchsine -Colorant du Lugol 	<ul style="list-style-type: none"> -Flacons de 250ml -Tubes à essais -Bicher 100ml -Entonnoir -Verre de montre -Erlenmeyer 500ml -Éprouvette 1000ml -Boîtes de pétri en verre -Pipette pasteur -Spectrophotomètre (photomètre 5010) -Étuve (Jouan) -Balance de précision (Ohaus) -Agitateur magnétique multiplace (VELP) -Vortex (VELP) -Microscope optique (Optica Axiom 2000) 	<ul style="list-style-type: none"> -L'eau oxygéné -L'eau distillé stérile -L'eau physiologique (0,9 % NaCl) -Sérum du tube citraté -Éthanol 70° -Alcool -L'huile à immersion 	<ul style="list-style-type: none"> -Disques d'antibiotique -Disques de papier wathman Ø 6mm -Disques de l'additif SFB -Sachets d'échantillonnage stérile -Lame et lamelle -Cuve -Anse de platine -Spatule -Filtre de seringue Ø 0.2 µm -Seringues stériles -Barreau magnétique -Écouvillons -Micropipette -Embouts -Pied de coulis -Boîtes de pétri stérile -Papier wathman N°3

Annexe II

Tableau II : compositions des milieux de culture et Bouillons utilisés dans la partie expérimentale

Gélose / Bouillon	Composition	Gramme / litre
Gélose VRBL (milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre)	Peptone Chlorure de sodium Extrait de levure Rouge neutre Sels biliaires Cristal violet Lactose Agar Agar pH	7g 5g 3g 0,03g 1,5g 0,002g 10g 15g 7,4 ± 0,2
Gélose PCA (Plate Count Agar)	Tryptone Extrait de levure Glucose Agar Agar pH	5g 2,5g 1g 12g 7,0 ± 0,2
Gélose Chapman	Peptone Extrait de viande de bœuf Chlorure de sodium Mannitol Rouge de phénol Agar Agar pH	10g 1g 75g 10g 0,025g 15g 7,4 ± 0,2
Gélose Hektoen	Protéose peptone Chlorure de sodium Citrate de fer ammoniacal Lactose Fuchsine acide Agar Agar Extrait de levure Sels biliaires Salicine Saccharose Bleu de bromothymol pH	12g 5g 1,5g 12g 0,1g 14g 3g 9g 2g 12g 0,065g 7,5 ± 0,2
Gélose Mueller Hinton	Peptone Extrait de viande Amidon Agar Agar pH	17,5g 2g 1,5g 17g 7,3 ± 0,1
Gélose nutritive	Agar Extrait de viande Extrait de levure	5g 1g 2g

	Chlorure de sodium Agar pH	5g 12g 7,3 ± 0,2
Bouillon Mueller Hinton	Extrait de viande Hydrolysate acide de caséine Amidon soluble pH	2g 17,5g 1,5g 7,4 ± 0,1
Bouillon BHIB (Bouillon cœur-cervelle)	Digestion enzymatique de tissus animaux Infusion De Cerveille De Veau Déshydratée Infusion de cœur de boeuf déshydraté Glucose Chlorure de sodium Hydrogénophosphate disodique, anhydre pH	10g 12,5g 5g 2g 5g 2,5g 7,4 ± 0,2
Bouillon TSE 4. (Tryptone Sel Eau)	Tryptone (peptone de caséine) Chlorure de sodium pH	1g 8,50g 7,0 ± 0,2
Bouillon Giolitti Cantoni	Tryptone Extrait de levure Extrait de viande Glycine Chlorure de sodium Chlorure de lithium Mannitol Pyruvate de sodium Tween 80 pH	10g 5g 5g 1,2g 5g 5g 20g 3g 1g 6,9 ± 0,2
Bouillon Schubert	Tryptone Tryptophane Acide glutamique Mannitol Sulfate de Magnésium Sulfate d'ammonium Citrate de Sodium NaCl Phosphate disodique pH	10g 0,2g 0,2g 7,5g 7,5g 0,4g 0,5g 2g 4g 7,6±0,2

Annexe III

- **Préparation d'éthanol 70° à partir d'éthanol 96°**

Pour préparer 1L (1000ml) d'éthanol 70°, en suivre la formule suivante :

$$C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f \text{ et } V_i = (C_f \cdot V_f) / C_i$$

C_i : la concentration initial 96°

V_i : Volume initial d'éthanol 96°

C_f : Concentration final 70°

V_f : volume final 70°

$$V_i = (1000\text{ml} \times 70^\circ) / 96^\circ = 729,16\text{ml de l'éthanol } 96^\circ$$

Le volume de l'eau distillée : $V_f - V_i = 1000\text{ml} - 729,16\text{ml} = 270,84\text{ml}$ de l'eau distillée

Donc : 729,16ml de l'éthanol 96° + 270,84ml de l'eau distillée = 1L d'éthanol 70°

- **Préparation de solution hydro-éthanolique (80 :20 ; v/v)**

Dans un bicher de 100ml mélangé 80ml d'éthanol 70° avec 10ml de l'eau distillée stérile, pour avoir 100ml de solution hydroéthanolique.

- **Préparation de Chlorure ferrique (Fecl₃) à 10%**

Dans un bicher de 100ml ajouté 10g de la poudre de Fecl₃ avec 100ml avec l'eau distillée, et laissez-le sous sous agitation pendant 15min jusqu'à obtenir une solution homogène.

Annexe IV

Tableau IV : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne des trois extraits issus de *Lavandula stoechas L*

Souche bactérien	Diamètres des zones d'inhibition (mm)												Antibiotique (µg/disque)
	Extrait éthanolique (µl/disque)				Extrait hydroéthanolique (µl/disque)				Extrait aqueux (µl/disque)				
	10	15	20	25	10	15	20	25	10	15	20	25	
<i>E. coli</i> (N=3)	NA	NA	9	19	NA	NA	NA	8	NA	NA	NA	NA	C ₃₀ (s) 28
	NA	7	12	18	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
	NA	7	8	18	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
<i>Staphylococcus aureus</i> (N=3)	14	15	19	28	11	13	15	26	NA	NA	NA	NA	GEN ₁₀
	13	16	22	29	11	14	16	27	NA	NA	NA	NA	35
	14	17	20	29	14	16	20	26	NA	NA	NA	NA	

Légendes : N : nombre de répétions ; NA : Non actif ; C₃₀ : chloramphénicol (30µg/disc) ; GEN₁₀ : Gentamicine (10µg/disc).

Annexe V

- **Purification de la souche bactérienne**

A partir de plusieurs colonies cultivées, ensemencer chaque colonie à part dans un milieu sélectif pour la souche que l'on veut l'étudier ; ce milieu sélectif permet le développement et la croissance de la souche d'intérêt et inhibe la croissance d'autres souches bactériennes. L'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'une colonie pure de chaque isolat (on s'assure par le microscope)

- **Protocole de la coloration du Gram**

A partir d'une colonie pure préparer une suspension bactérienne afin de réaliser et fixer un frottis bactérien à la chaleur du bec Bunsen. Recouvrir au violet de Gentiane (crystal violet) pendant 1min le frottis et éliminer l'excès par l'eau courante. Par la suite, Fixer par Lugol pendant 1min et jeter l'excès par l'eau courante. Décolorer avec l'alcool 95° pendant quelques secondes (10-15 secondes) après Recolorer avec la Fuschine pendant 60 à 75 secondes, rincer à l'eau puis sécher le frottis par un papier absorbant. On termine par l'observation qui se fait en ajoutant de l'huile à immersion et au plus fort grossissement (grossissement : objectif x 100) en lumière blanche (lumière maximale).

Annexe VI

Tableau VI : (A) : évaluation de la CMI d'extrait éthanolique de *L. stoechas* sur la croissance de *S. aureus*

La souche étudiée	Densité optique	Témoin	Concentrations de l'extrait éthanolique de <i>L. stoechas</i> (mg/ml)					
			1,562	3,125	6,25	12,5	25	50
<i>S. aureus</i>	<i>di</i>	0,020	1,221	1,541	1,853	1,925	2,003	2,104
	<i>df</i>	0,443	1,439	1,643	1,855	1,926	2,004	2,105
	<i>df-di</i>	0,423	0,218	0,102	0,002	0,001	0,001	0,001
	S (%)	100%	51%	24%	0	0	0	0
CMI	6,25							

Légendes : *di* : la valeur de DO du tube expérimental avant l'incubation ; *df* : la valeur de DO du tube expérimental après l'incubation.

Tableau VI : (B) : évaluation de la CMI d'extrait hydro-éthanolique de *L. stoechas* sur la croissance de *S. aureus*

La souche étudiée	Densité optique	Témoin	Concentrations de l'extrait hydro-éthanolique de <i>L. stoechas</i> (mg/ml)					
			1,562	3,125	6,25	12,5	25	50
<i>S. aureus</i>	<i>di</i>	0,020	1,201	1,528	1,767	1,936	2,009	2,111
	<i>df</i>	0,445	1,442	1,654	1,829	1,937	2,010	2,112
	<i>df-di</i>	0,425	0,241	0,126	0,062	0,002	0,001	0,001
	S (%)	100%	56%	29%	14%	0	0	0
CMI	12,5							

Tableau VI : (C) : évaluation de la CMI d'extrait éthanolique de *L. stoechas* sur la croissance de *E. coli*

La souche étudiée	Densité optique	Témoin	Concentrations de l'extrait éthanolique de <i>L. stoechas</i> (mg/ml)					
			1,562	3,125	6,25	12,5	25	50
<i>E. coli</i>	<i>di</i>	0,022	1,301	1,582	1,724	1,952	2,002	2,109
	<i>df</i>	0,448	1,527	1,683	1,802	1,954	2,001	2,108
	<i>df-di</i>	0,426	0,226	0,101	0,078	0,002	0,001	0,001
	S (%)	100%	53%	23%	18%	0	0	0
CMI	12,5							

Résumé

Résumé

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété des molécules biologiquement actives. Dans ce contexte notre travail est basé sur l'évaluation *in vitro* l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique, hydro-éthanolique et aqueux de *Lavandula stoechas* sur les souches bactériennes contaminants de la viande bovine hachée. Le rendement des trois extraits obtenus par macération dans trois solvants polaires : éthanol, hydroéthanol et l'eau distillée sont respectivement de 19,01%, 15,03% et 10,04%. Les résultats de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque ont montré une meilleure activité de l'extrait éthanolique vis-à-vis des souches testées dont la plus grande zone d'inhibition est de $18,33 \pm 0,57$ mm pour *E. coli* et $28,66 \pm 0,57$ mm pour *S. aureus*. Par contre, l'extrait hydro-éthanolique a montré une activité importante uniquement sur *S. aureus* avec des zones d'inhibition allant de $10,33 \pm 2,30$ mm à $24,33 \pm 3,78$ mm. D'autre part, l'extrait aqueux n'a eu aucun effet sur les deux souches. Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) varient entre 6,25 et 12,5 mg/ml ce qui révélerait une inhibition très forte, tandis que les Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) se retrouvent entre 12,5 et 25 mg/ml. Au bout de cette étude, nous retiendrons que l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique exercent un effet bactéricide sur les souches bactériennes étudiées et pourrait par conséquent être utilisé dans la lutte des pathogènes de la viande bovine hachée et le traitement des maladies infectieuses d'origine alimentaire.

Mots clés : viande bovine hachée, *Lavandula stoechas*, Extrait, activité antibactérienne, *E. coli*, *S. aureus*.

Abstract

Natural plant extracts contain a variety of biologically active molecules. In this context, our work is based on the evaluation *in vitro* of the antibacterial activity of ethanolic, hydro-ethanolic and aqueous extract of *Lavandula stoechas* on bacterial strains contaminants of ground beef. The yield of the three extracts obtained by maceration in three polar solvents: ethanol, hydro-ethanol and distilled water are respectively 19.01%, 15.03% and 10.04%. The results of the antibacterial activity by disc diffusion method showed a great activity of the ethanolic extract against the tested strains of which the largest inhibition zone is $18,33 \pm 0,57$ mm for *E. coli* and $28,66 \pm 0,57$ mm for *S. aureus*. In contrast, the hydro-ethanolic extract showed significant activity only on *S. aureus* with inhibition zones ranging of $10,33 \pm 2,30$ mm to $24,33 \pm 3,78$ mm. On the other hand, the aqueous extract had no effect on both strains. The Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) vary between 6.25 to 12.5 mg/ml, which would reveal a very strong inhibition, while the Minimum Bactericidal Concentrations (MBC) vary between 12.5 to 25 mg/ml. At the end of this study, It should be noted that the ethanolic and hydro-ethanolic extracts exert a bactericidal effect on the bacterial strains studied and could therefore be used in the control of pathogens of ground beef and in the treatment of food-borne infectious diseases.

Key words: Ground beef, *Lavandula stoechas*, Extract, Antibacterial activity, *E. coli*, *S. aureus*.

ملخص

تحتوي المستخلصات النباتية الطبيعية على مجموعة متنوعة من الجزيئات النشطة بيولوجيًا. في هذا السياق، يستند عملنا إلى التقييم المختبري للنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الإيثانولي، المائي الإيثانولي و المائي لـ *Lavandula stoechas* على السلالات البكتيرية الملوثة لحم البقر المفروم. محصول المستخلصات الثلاثة التي تم الحصول عليها عن طريق النقع في ثلاثة مذيبات قطبية: الإيثانول، الإيثانول المائي والمياه المقطرة هي على التوالي 19.01% و 15.03% و 10.04%. أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا باستعمال طريقة القرص المنتشر نشاطاً أفضل للمستخلص الإيثانولي بالنسبة للسلالات المختبرة بحيث تبلغ أكبر منطقة تثبيط إلى $18,33 \pm 0,57$ ملم للإشريكية القولونية و $28,66 \pm 0,57$ ملم للمكورة العنقودية. في المقابل، أظهر المستخلص المائي الإيثانولي نشاطاً كبيراً فقط على المكورة العنقودية مع مناطق تثبيط تتراوح من $10,33 \pm 2,30$ ملم إلى $24,33 \pm 3,78$ ملم. من ناحية أخرى، لم يكن للمستخلص المائي أي تأثير على كلتا السلالتين. تتراوح التركيزات المثبطة الدنيا (MIC) من 6.25 إلى 12.5 ملغم/ملم والتي من شأنها أن تكشف عن تثبيط قوي للغاية، بينما تتراوح التركيزات الأدنى للجراثيم (MBC) من 12.5 إلى 25 ملغم/ملم. في نهاية هذه الدراسة، تجدر الإشارة إلى أن المستخلص الإيثانولي و المائي الإيثانولي يتميزان بتأثير بكتيري قاتل على السلالات البكتيرية التي تمت دراستها وبالتالي يمكن استخدامها في السيطرة على البكتيريا المسببة للأمراض الموجودة في اللحم المفروم وعلاج الأمراض المعدية التي تنتقلها الأغذية.

الكلمات الرئيسية: لحم البقر المفروم، *Lavandula stoechas*، المستخلص، النشاط المضاد للبكتيريا، الإشريكية القولونية، المكورة العنقودية.