

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
التعليم العالي والبحث العلمي وزارة
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : sciences biologiques

Spécialité: biochimie appliquée

Intitulé :

Étude comparative de l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles commerciales de *Nigella sativa L* vis-à-vis des souches bactériennes *Escherichia coli*, *Klebseilla pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*

Présenté Par :

Haffour Imene

Haddad Maroua

Boussadia Yasmine

Kaffi Aouatef

Membre de Jury:

M ^f . Boudjellab Zine eddine (MCB)	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
M ^{me} . Ghannam M. (MCB)	Promotrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
M ^{me} . Ennaghra N (MCB)	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir accordé la santé et le courage d'atteindre la fin de ce travail.

Nous adressons tout d'abord nos sincères et chaleureux remerciements à notre encadrante **Dr. GHANNAM.M**, on tient vivement à lui exprimer nos profonde reconnaissance et nos gratitude pour sa pour sa disponibilité, sa patience , sa compréhension. Merci pour vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, et surtout merci pour vos qualités scientifiques et humaines.

Aux membres de notre jury **Dr. ENNAGHRA. N** et **Dr . BOUDJELLAB.Z** nous vous remercions de votre présence, de votre lecture attentive de ce mémoire, ainsi que de vos commentaires pour améliorer notre travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre grand respect et de nos chaleureux remerciements.

Nos plus vifs remerciements vont à notre professeur et chef de département **Dr . BOUDJELLAB.Z** pour tous ses conseils, sa gentillesse, et pour tout ce qu'il nous a offert durant les années d'études.

À la doctorante Imen Feraguena merci beaucoup pour votre aide et vos encouragements lors de la réalisation de notre projet fin d'étude.

Ne l'oublions pas, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de quelque manière que ce soit à l'élaboration de cette thèse et à la réussite de ce parcours académique .

Dédicaces

أولاً احمد الله على توفيقه لي وأن بلغني هذه اللحظة الغالية والنجاح الكبير

je dédie ce modeste travail

الى من وضع المولى- سبحانه و تعالى- الجنة تحت قدميها وقرها في كتابه العزيز.... الى سندي الدائم

« امي الحبيبة »

الى من افنى حياته في رعايتي مثلي الاعظم "ابي الغالي"

À mes chers parents "Ahmad " Et "Sabah " Merci pour les encouragements, la tendresse, l'affection et le soutien durant toute la période de mes études.

je souhaite que vous trouviez ici le fruit de vos sacrifices.

Que dieu vous bénisse et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

À mon frère imad eddine tu es mon soutien dans la vie après mon père. tu as toujours fait partie de mon succès. Que Dieu vous protège pour moi. je t'aime toujours

À ma sœur bouchra Merci pour votre encouragement et votre confiance, pour votre énorme support pendant la rédaction de mon projet! Je t'aime beaucoup.

À ma petite sœur samar . ma force dans la vie Merci pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions. Merci pour votre amour tu es la plus belle. je t'aime beaucoup

À Mon frère « Housseem »

À mes Bébés « Islam »et « Elina », Mon dieu vous bénisse avec une bonne santé et une longue vie.

À ma meilleure « Maya »tu es la plus belle amie que Allah ma donnée merci pour votre soutien pour votre amour pour votre amitié je te souhaite la réussite dans ta vie je t'aime très fort

À tous mes Amis surtout ma sœur * el khansaa* merci pour tous et merci pour votre amitié je t'aime et à mes belles yasmine et iman vous êtes les meilleurs je vous aime, merci pour Achraf Que Dieu vous protège

À ma deuxième maman « Fatiha » merci pour votre soutien et votre amour que dieu te garde pour moi je t'aime

Haddad Maroua الى روح فقيدي الغالي 'جدي الحبيب' لن انساك في هذا اليوم اهديك نجاحي هذا رحمك الله يا غالي

Dédicace

Je dédie ce modeste mémoire à mes chers parents **Charif & Souad**, j'espère qu'ils seront fiers de moi

A mes chère grand-mère **Djamilla** , grand-père **Boudjema** 'رحمة الله عليهم'

À mes frères **Hamza, Youcef, Djamel, Mouhamed**, et mon petit **Khalil**

A ma sœur **Kawther**

Et ma belle '**Yasmine Boussadia**' qui juste là ma sœur d'amour

Ma petite maw '**Maroua Haddad** ' ma pote d'après la 1^{er} année de licence

Ma découverte '**Aouatif kaffi** ' et '**El-Khansaa Bouraoui** '

Mon marchemello **Abd Rahim** , mon cousin **Abd Rahman** , mes deux sucre **Malak** et **Nour**

A mes oncles d'amour **Kamel** et **Azzedine** et à toute ma chère famille,

Ma douce étoile " **Nedjma** "

Ma force "**Y**"

A tous mes enseignants ,

Mes collègues **kawther** , **hanene** , **marwa** , **manel** , **hazar** , **besma** et toute la promo de biochimie appliquée 2018-2023 .

Haffour Imene

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes plus chers êtres au monde :

*A mes chères parents : ma mère **Chellouk lilla** et mon père **Kafi kamel** pour leur amour, leur tendresse, et pour leur soutien durant toutes les étapes de ma vie. J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que Dieu leur prête tout le bonheur.*

*A mes chères frères **Mokhtar ,Nawfel ,Islam** et mes yeux **Mohamed** . A ma sœur **Maria** son mari **djamel** et belle Sœur **Ferdous***

Pour leurs encouragements et pour leur soutien moral et physique.

*A mes nièces : **Farah, Tasnim, Anfel et Hidaya***

Que Dieu les bénisse

*A mes cousines **faiza, sondous et safia** que Dieu leur prête tout le bonheur.*

*A ma force d'être, mon futur mari: **Ayoub***

*A mes chères tantes: **chafia, fatima, halima, et dallila** et mon oncle: **mounir***

*et ma grande mère : **zabida***

Merci de votre présence, soutien et de m'avoir encouragée à aller plus loin

*A mes amies : **Amani ,yasmin ,maroua et imen***

A tous ce qui ont enseigné moi au long de ma vie scolaire .Pour tout leur amour, leur soutien, leur encouragement, leur assistance et leur présence dans ma vie.

A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.

kafi Aouatef

Dédicace

Je remercie tout d'abord Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

À mes parents et ma grande mère,

Pour votre soutien constant, votre affection, vos innombrables sacrifices et sans qui je ne serais pas arrivé jusqu'ici. Merci pour tout ce que vous m'avez appris et inculqué. Recevez ici ma profonde gratitude pour votre patience et votre confiance.

À mes frères, Abdrahmane et Okba nafaâ dine.

À mes oncles Ghani et Hassane, je vous remercie pour votre soutien moral votre patience et votre compréhension tout au long de ce travail.

Je le dédie aussi spécialement à ma force Imane et ma belle Maroua, je vous remercie pour votre amitié, votre soutien et encouragements, surtout pour tous les bons moments.

À mes amis,

Sarah, Narimane, Amira, Ferial, Ichrak, Maïssa, Lamis, Anphel, channez ,Bouchra, Maysoune, Roumaïssa, Imane, Kawther, Hanane, meriem, Awatif, Fyz et les autres, avec lesquels j'ai pu partager des moments de bonheur uniques. Que ces amitiés perdurent.

À tous mes enseignants et mes collègues

À tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenu ou aidé durant la réalisation de ce travail.

Table des matières

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 2

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : plante et huile essentielle de *Nigella sativa L*

I-1- Généralité sur la plante <i>Nigella Sativa L</i>	4
I-1-1-Etymologie	4
I-1-2- Description botanique	4
I-1-3- Taxonomie de <i>Nigella Sativa L</i>	5
I-1-4- Historique et pratique de phytothérapie traditionnelle	6
I-1-5- Composition phytochimiques de la <i>Nigelle Sativa</i>	7
I-1-5-1– Eléments primaires	7
I-1-5-2- Eléments secondaires.....	7
I-1-6- Toxicité de <i>Nigella sativa L</i>	11
I-2 -Huile essentielle de la plante	14
I-2- 1- Composition d’HE.....	15
I-2-2- Thymoquinone	16
I-2-3- Mode d’extraction	16
I-3- Propriétés physico-chimiques des compositions de <i>Nigella sativa</i>	17
I-4 - Relation entre composants chimiques et activités biologiques de <i>NS</i>	19
I-4-1- Propriété anti – bactérienne.....	19
I-4-2- Action antioxydant.....	20

I -4- 3 - Action anti – inflammatoire	21
I- 4 – 4- Action- immunomodulatrice.....	21
I – 4 – 5- Action cytotoxique et anti tumorale	22

Chapitre II : Bactéries et pathologies

II-1 Les bactéries utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile de la <i>Nigella sativa</i> L.....	24
II-2. Classification des bactéries	24
II-2-1 Les bactéries à Gram négatif.....	24
II-2-2. Les bactéries à Gram positif	26

Partie II : Etude expérimentale

I-Présentation du site d'accueil	29
II- Matériel	29
II-1 Matériel végétal	29
II-2 Matériel biologique	30
II-3 Matériel non biologique	30
III- Méthodes.....	31
III-1 Revivification des souches bactériennes.....	31
III-2 Etude morphologique	31
III-2-1 Etude macroscopique.....	31
III-2-2 Etude microscopique	31
III-2-2-1 Examen à l'état frais.....	31
III-3 coloration de Gram	31
III-4 Etude de l'activité antibactérienne	32
III-4-1 Méthode de diffusion des disques sur milieu solide (aromatogramme).....	32
III-4-2 Préparation des milieux de culture	32
III-4-3 Préparation de l'inoculum.....	32

III-4-4 Ensemencement.....	33
III-4-5 Application des disques	33
III-4-6 Lecture	34
III-5 Méthode détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice	34

Patrie III: Résultats et discussion

III-1- Résultats.....	37
III-1-1- Observation macroscopique	37
III-1-2- Observation microscopique	38
III-1-3- Examen à l'état frais	38
III-2-2- Examen après coloration de Gram.....	38
III-3- Evaluation de l'activité antibactérienne	38
III-4- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrices	40
IV- Discussion.....	41
Conclusion et perspectives.....	48

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

La *Nigella sativa*, est une plante herbacée de la famille des Renonculacées, était utilisée depuis des siècles au médecine traditionnelle comme remède des maladies humaines puisqu'elle contient dans son huile essentielle des composants chimiques de valeur thérapeutique, on a ciblé leur efficacité antibactérienne.

Le but de cette étude consiste à étude comparative de l'activité antibactérienne de deux sources de l'huile essentielle commerciale de la *Nigella sativa L* vis-à-vis des souches bactériennes *Escherichia coli*, *Klebseilla pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*, via la mesure du diamètre d'inhibition par la méthode de diffusion sur milieu solide et détermination de la concentration minimale inhibitrice.

Au terme de notre étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle commerciale « A » étudiée, présente une activité antibactérienne sur des bactéries à Gram positive *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition (21 mm) et des bactéries à Gram négatif *Klebseilla pneumoniae* un diamètre de (10 mm) et *Escherichia coli* une souche non sensible ($D < 8$).

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle commerciale « B » étudiée, présente une faible activité antibactérienne sur des bactéries à Gram positive *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition (9mm) et les deux souches *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* sont non sensible ($D < 8$ mm)

La détermination de la CMI des souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* étaient de 0,0625 mg /ml. Ces valeurs montrent que les bactéries de Gram- et Gram+ sont sensibles au l'huile de commerce « A » de la *Nigella sativa*

Mots clés : huile essentielle, *Nigella sativa*, activité antibactérienne.

Abstract

Nigella sativa, an herbaceous plant in the Renonculaceae family, has been used for centuries in traditional medicine as a remedy for human illnesses, since its essential oil contains chemical components of therapeutic value, and we targeted their antibacterial efficacy.

The aim of this study was to compare the antibacterial activity of two sources of *Nigella sativa L* commercial essential oil against the bacterial strains *Escherichia coli*, *Klebseilla pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*, by measuring the inhibition diameter using the solid-state diffusion method and determining the minimum inhibitory concentration.

At the end of our study of the antibacterial activity of the commercial essential oil « A » used exhibited antibacterial activity on Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* with an inhibition diameter (21 mm) and Gram-negative bacteria *Klebseilla pneumoniae* a diameter of (10 mm) and *Escherichia coli* non-susceptible strain ($D < 8$).

The study of the antibacterial activity of the commercial essential oil « B » used showed low antibacterial activity on Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* with an inhibition diameter (9mm) and the 2 strains *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* are non-susceptible ($D < 8$ mm).

MIC values for *Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae* and *Staphylococcus aureus* were 0.0625 mg /ml. These values show that Gram - and Gram+ bacteria are sensitive to *Nigella sativa* commercial oil A.

Key words: essential oil, *Nigella sativa*, antibacterial activity.

الملخص

حبة البركة ، هي نبات عشبي من عائلة الحوذان ، وقد استخدمت لعدة قرون في الطب التقليدي كعلاج للأمراض البشرية لأنها تحتوي في زيوتها الأساسية على مكونات كيميائية ذات قيمة علاجية ، وقد تم استهداف فعاليتها المضادة للبكتيريا .

الهدف من هذه الدراسة هو دراسة النشاط المضاد للبكتيريا المقارن لمصدرين للزيت العطري التجاري من حبة البركة ضد السلالات البكتيرية *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *Staphylococcus aureus* ، وذلك عن طريق قياس قطر التثبيط بطريقة الانتشار. على وسط صلب وتحديد أقل تركيز مثبط.

في نهاية دراستنا للنشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري التجاري « A » المستخدم له نشاط مضاد للبكتيريا على بكتيريا *Staphylococcus aureus* إيجابية الجرام بقطر تثبيط (21 مم) وبكتيريا سالبة الجرام *Klebsiella pneumoniae* قطرها (10 مم) و سلالة غير حساسة. (D < 8)

تُظهر دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري التجاري « B » المستخدم نشاطاً مضاداً ضعيفاً للبكتيريا إيجابية الجرام *Staphylococcus aureus* بقطر تثبيط (9 ملم) وسلالتي *E. coli* و *Klebsiella pneumoniae* ليست حساسة (D < 8mm)

كان تقدير MIC للسلالات البكتيرية *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *Staphylococcus aureus* 0.0625مجم / مل. توضح هذه القيم أن بكتيريا غرام- و غرام + حساسة للزيت التجاري أ من حبة البركة.

الكلمات المفتاحية: زيت عطري ، حبة البركة ، نشاط مضاد للبكتيريا .

Liste des tableaux

Tableau 01 : Identification botanique de la Nigelle.....	05
Tableau 02 : Composants de l'HE de <i>Nigella sativa</i>	16
Tableau 03 : comparaison entre quelque propriétés physico-chimiques.....	18
Tableau 04 : Nature et origine des souches testées.....	30
Tableau 05 : observation microscopique de 3 souches.....	37
Tableau 06 :Activité antibactérienne d'huile essentielle commerciale « A » de <i>NS</i>	49
Tableau 07 : Activité antibactérienne d'huile essentielle commerciale « B » de <i>NS</i>	40
Tableau 08 : présentation du matériel utilisé dans laboratoire	50

Liste des figures

Figure 01 : Planche botanique de la <i>Nigella sativa</i> L.....	05
Figure 02 : Structure chimiques des plus importants alcaloïdes isolés des graines de <i>N.Sativa</i>	08
Figure 03 : Dérives de quinones d'HE de <i>Nigella sativa</i>	15
Figure 04 : Photographie au microscope optique de <i>Escherichia coli</i>	25
Figure 05 : Photographie au microscope optique de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	26
Figure 06 : Photographie au microscope optique de <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Figure 07 : Huile commerciale A de graine de Nigelle.....	29
Figure 08 : Huile commerciale B de graine de Nigelle.....	30
Figure 09 : Détermination in vitro du pouvoir antibactérien.....	32
Figure 10 : Préparation d'inoculum.....	33
Figure 11 : Ensemencement des souches.....	33
Figure 12 : Application des disques.....	34
Figure 13 : Protocole de méthode macrodilution de CMI.....	35
Figure 14 : Aspect macroscopique des colonies des différentes	37
Figure 15 :Observation microscopique des 3 souches	38
Figure 16 : photographie montrant l'action d'huile de commerce A de la <i>Nigella sativa</i> sur les Souches bactériennes : (a) <i>S. aureus</i> (b) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (c) <i>E. coli</i>	38
Figure 17 : photographie montrant l'action d'huile de commerce B de la <i>Nigella sativa</i> L sur les Souches bactériennes : (d) <i>Klebsiellapneumoniae</i> (e) <i>S.aureus</i> (f) <i>E.coli</i>	39
Figure 18 : Photographie montrant la CMI d'huile de <i>Nigella sativa</i> sur 3souches (a) <i>Staphylococcus aureus</i> , (b) <i>E.coli</i> , (c) <i>Klebsiella pneumoniae</i>	40

Liste des abréviations

NS : *Nigella sativa*

HE : huile essentielle

HV : huile végétale

HE CA : huile essentielle commerciale « A »

HE CB : huile essentielle commerciale « B »

TQ : Thymoquinone

FV : facteurs de variabilité

N : Nigelle, *Nigella*

AG : acide gras

TAG : Triacylglycérols

AGI : Acide gras instauré

AGS : Acide gras saturé

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

E. coli : *Escherichia coli*

SNV : science de nature et de la vie

MH : Muller Hinton

Mm : millimètre

mg : milligrammes

CMI : concentration minimal inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

PL : Phospholipide

ppm : partie pour million 10^{-6}



Introduction

Introduction

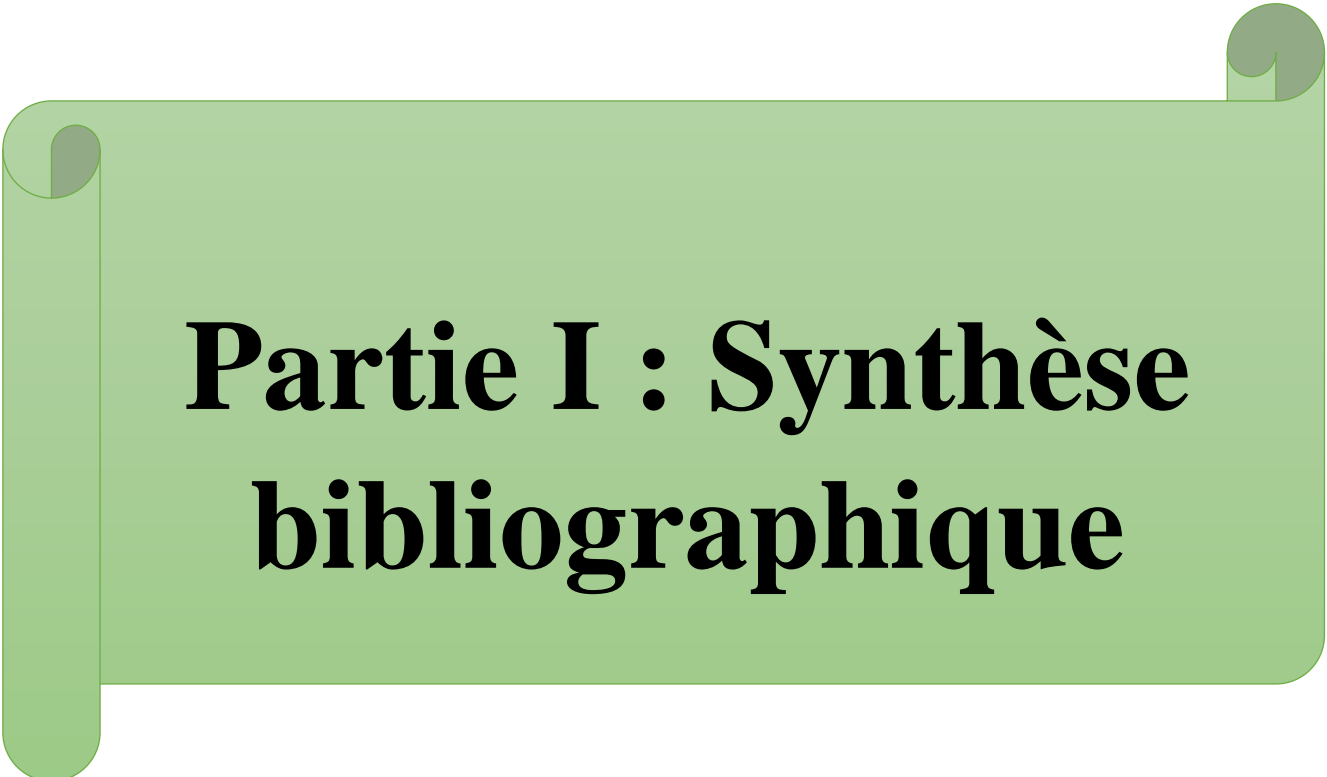
Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles pour traiter des maladies dans différents systèmes de médecine indigène et populaire. En outre, les plantes médicinales sont également utilisées dans la préparation de médicaments à base de plantes car elles sont considérées comme sûres par rapport aux médicaments allopathiques modernes. (Ahmed et al. 2013)

Parmi diverses plantes médicinales, la *Nigella sativa* L (*N. sativa*) (Ranunculaceae) s'est imposée comme une plante miraculeuse à l'histoire riche et religieuse, de nombreuses études ayant révélé son large éventail de potentiel pharmacologique. *N. sativa* L est souvent appelée "graine noire". *N. Sativa* L est originaire d'Europe du Sud, d'Afrique du Nord et d'Asie du Sud-Ouest, et est cultivée dans de nombreux pays du monde, tels que la région méditerranéenne du Moyen-Orient, l'Europe du Sud, l'Inde, le Pakistan, la Syrie, la Turquie et l'Arabie saoudite. (Ahmed et al., 2013)

De nombreuses allégations médicinales populaires concernant l'utilisation des graines noires ont été scientifiquement testées. Au cours des cinq dernières années, plus de 150 études ont été menées pour étudier les propriétés chimiques et pharmacologiques de la graine noire. Les études phytochimiques des graines noires ont révélé la présence de plus de 100 constituants. On pense que la combinaison d'acides gras, d'huiles volatiles et d'oligo-éléments contribue à l'activité pharmacologique de la graine noire telles que l'activité antitumorale, antidiabétique, anti infectieuse (tels que l'inhibitions de l'activité bactérienne de *Staphylococcus aureus* l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*) . Parmi les composés qui ont reçu le plus d'attention figure la thymoquinone, confirmant ainsi l'utilisation traditionnelle de la *Nigella sativa* L . (Ahmed et al., 2013)

Dans le monde arabo-musulman, Cette plante est utilisée comme remède naturel chez les musulmans influencés par les paroles du Prophète. Abu Hurayrah (رضي الله عنه) raconte que le Prophète Muhammad (صلى الله عليه وسلم) a dit, «Utilisez cette graine noire régulièrement; parce que, c'est un remède (guérir) pour chaque maladie excepté la mort..» [Al-Bukhari et Muslim].

Par ce travail, nous vous invitons à découvrir les graines de *Nigella sativa* L, en commençant dans une première partie par une présentation générale de *Nigella sativa* L et sa composition chimique. Ensuite, nous nous intéresserons à étudier l'activité antibactérienne de deux sources de l'huile essentielle commerciale de *Nigella sativa* L in vitro et comparer leur efficacité respective. Cela permet de déterminer si l'huile de commerce conserve les mêmes propriétés que l'huile pure de *Nigella sativa* L et une activité antibactérienne vis-à-vis les bactéries *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* et si son processus de fabrication peut altérer son efficacité.



Partie I : Synthèse bibliographique

**Chapitre I : plante et
huile essentielle de
*Nigella sativa***

I-1- Généralité sur la plante *Nigella Sativa* L**I-1-1- Ethymologie**

Le genre *Nigella* L. (nigelle, fleur de fenouil) doit son nom à ses graines, comme caractéristique, les graines de la plupart des espèces de Nigelle sont noires. Le latin *nigellus* est une abréviation de niger, qui signifie « noir » (Hegi 1975). Nom grec ancien « μελάνθιον » (melanthion, "fleur [graine] noire) (Andreas G 2005).

Quant au nom d'espèce « *sativa* », il signifie « semer » ou « cultiver » car *Nigella sativa* est une variété cultivée spécialement pour ses graines comestibles utilisées comme épice culinaire ou à des fins cosmétiques et médicinales.

I-1-2- Description botanique

La Nigella sativa L est une plante herbacée annuelle atteignant une hauteur d'une soixantaine de centimètre.

A partir d'une racine pivotante grele s'élève une tige cotelée anguleuse , deveteuse et ramifiée. Cette tige porte des feuilles multifides divisées en segment courts linéaires et acuminés au pétiole pubescent . La plante présente également des feuilles radicales bi- à tri-pennatiséquées vertes et velues. Il est à noter l'absence du verticille de feuilles sous la fleur, caractéristique de la plupart des nigelles. (voir figure 1) .

La *Nigelle cultivée* est une plante hermaphrodite fleurissant généralement en début d'été (juin/juillet). Ses fleurs actinomorphes sont solitaires, terminales ou axillaires. Elles sont constituées d'un calice prédominant à 5 sépales pétaloïdes blanchâtres à bleu pâle disposés en La corolle est réduite à 5 pétales en forme de cornets bilabiés bien plus petits que les sépales. Le nectar est distribué par 8 autres petits cornets, l'androcée est formé de nombreuses étamines distribuées en une couronne dressée près du pistil et une couronne étalée sur les sépales. Le pistil présente 5 carpelles soudés et 5 styles longs. Ses fruits sont des follicules soudés formant une sorte de capsule ncontenant plusieurs graines blanchâtres devenant noires à l'air libre. (Agrigomondiale)



Figure 01: La planche botanique de la *Nigella sativa* L

I-1-3- Taxonomie de *Nigella Sativa* L

- Selon la Classification phylogénétiques APG III qui présenté dans le tableau 1 (Cette classification APG III (2009) est la dernière révision de la classification des angiospermes établie par ApG (l'Angiosperm Phylogeny Group) cette version remplace la version APG I et APG II).

Tableau 1 : Identification bonatnique de la *Nigella Sativa* , tela-botanica.org

Règne	<i>Archéplastides</i>
Clade	<i>Angiospermes</i>
Clade	<i>Dicotylédones vraies</i>
Ordre	<i>Ranunculales</i>
Famille	<i>Renonculacées</i>
Famille	<i>Renonculoidées</i>
Genre	<i>Nigella</i>
Espèces	<i>Sativa</i>

I-1-4- Historique et pratique de phytothérapie traditionnelle

La Nigelle a connu comme un remède traditionnelle et une épice utilisée . D'après des historiographiques des tablettes d'argile datant de près de 5 000 ans ont été retrouvées en Mésopotamie où différentes plantes étaient répertoriées. Parmi celles-ci la Nigelle. (**Toparslan, C. 2012**)

Dans l'ancienne médecine phyonique *N. Sativa* utilisée pour ses propriétés thérapeutiques , ainsi que comme condiment et cosmétique. Dans la traduction de l'ouvrage des docteurs Schleicher et Saleh, *Guérir au naturel avec le cumin noir d'Egypte*, il est affirmé que les graines étaient prises à la suite de repas copieux, contre les cas de refroidissement, pour le traitement des céphalées et des douleurs dentaires. Points sur la découverte d'une fiole de huile végétale de *NS* dans le tombeau du pharaon Toutankhamon. Elle aurait aussi été utilisée par les reines phyoniques Néfertiti et Cléopâtre en cosmétologie. (**Pasha, H.S. 2008**), (**Schleicher, P. and M. Saleh .2003**). Hippocrate désigne *N. sativa* sous le nom de *Melanthion* et lui attribue des propriétés thérapeutiques dans les troubles digestifs et les maladies du foie (**Tariq, M. 2008**).

Il est utile contre les morsures des scorpions et la piqûre des serpents. On l'applique, avec du vinaigre et du miel et aussi utilisée comme une chasse des serpents à cause de son arôme, il guérit les rhumes de cerveau, il calme les douleurs de tête, il dissipe les inflammations et les enflures des yeux ; cuit avec du vinaigre, il apaise le mal de dents ; broyé ou mâché, il guérit les ulcères de la bouche, il augmente le lait aux femmes qui nourrissent. Cette graine nettoie les yeux, et pousse les urines et les règles. Dans la tradition musulmane , on trouve des références à *Nigelle sativa* dans plusieurs recueils de hadiths , parmi ceux-ci on trouve el-hadith des imâms Al-Boukhârî et Mouslim : « *Dans Al-Habbat As-Sawdah, il y a certes un remède pour toutes les maladies, sauf assâm.* » (**Al-Boukhârî, Le Sahîh d'Al-Boukhârî (Arabe-Français). 2007**). Le terme *as-sâm* désigne la mort comme l'explique ibn Chihâb Az-Zouhrî, l'élève des compagnons du Prophète Mohammed (Ibn-Qayyim.2010). *Al-Habbat As-Sawdah* correspond à *N. sativa* comme cela a été expliqué au début de ces généralités.

En 1975, l'équipe d'Al-Fatary met en évidence un premier principe actif retrouvé dans l'huile volatile de *Nigella sativa* : la thymohydroquinone. Ce premier composant se trouve avoir des propriétés antimicrobiennes, notamment contre les bactéries gram positif. (**El-Fatary, H.M. 1975**).

I-1-5- Composition phytochimiques de la *Nigella Sativa***I-1-5-1 – les éléments primaires**

- **Les protéines**

Les graines de *Nigella sativa* contiennent en moyenne 20% de protéines. grâce à une étude réalisée en 1992, Mr Saleh AlJassir, a permis de donner le profil des acides aminés des graines de nigelle, Les principaux acides aminés sont l'acide glutamique(24.74%) suivi de l'arginine(9.19%), l'acide aspartique(8.94%), la et la glycine(5.61%). Ces acides aminés majeurs constituaient plus de 54% des acides aminés totaux présents dans les protéines des graines de *NS* La cystine et la méthionine étaient les acides aminés mineurs alors que le tryptophane était absent. . (Al-Jassir MS, 1992)

- **Les Vitamines**

Une étude menée en Turquie en 1992 sur la composition en vitamines des graines de *Nigella sativa L.* révèle la présence de teneurs intéressantes en vitamines B1 (Thiamine), B2(Riboflavine), B6(Pyridoxine), PP (Niacine) et en B9 (acide folique). .Les tocophérols totaux constituent 0,05% de l'huile, et sont constitués majoritairement de l' α -tocophérol et du γ -tocophérol (Al-Jassir MS, 1992). D'autres vitamines liposolubles comme le β -carotène et la vitamine K1 et vitamine C. (Nergiz C, Ötles S, 1993)

- **les sels minéraux**

Une autre étude sur la composition minérale de la graine de *Nigella sativa* ont rapporté que sa teneur en potassium est prédominant dans les graines suivi par le phosphore, puis le sodium et le fer. Cependant, le zinc, le calcium, le magnésium, le manganèse et le cuivre étaient présents en petites quantités et donc une autre source est nécessaire pour fournir certains de ces éléments. (Al-Jassir MS, 1992).

I-1-5-2- Les éléments secondaires

- **Les alcaloïdes**

Les graines de *Nigella sativa* contiennent 12 alcaloïdes. sont des produits chimiques trouvés principalement dans les angiospermes. Les familles sont prédisposées à les générer, et les renonculacées font partie de l'acronyme. Les plantes qui produisent ces substances ont rarement un seul alcaloïde; elles ont généralement deux. En général, un mélange complexe. Les alcaloïdes ont,

pour la plupart, des actions physiologiques et thérapeutiques à faibles doses. Ils deviennent cependant très toxiques à fortes doses. Les plus importants alcaloïdes de *N. Sativa*, ont été isolés à partir des graines par Atta-ur-Rahman entre 1985 et 1995 :

- Au Pakistan, par exemple (voir figure 2)

1985 : Nigellimine N-oxyde : alcaloïde isoquinoléique

1985 : Nigellicine : alcaloïde indazolique

1992 : Nigellimine : alcaloïde isoquinoléique

1993 : Nigellidine : alcaloïde indazolique (Atta-Ur-Rahman et al).

- Ont découvertes au Japon :

Nigellamine A1, A2, B1, B2 alcaloïdes diterpéniques de la classe de dolabellane ont été découverts en 2003. Nigellamine A3, A4, A5, C (Morikawa et al), Ont mené ces études.

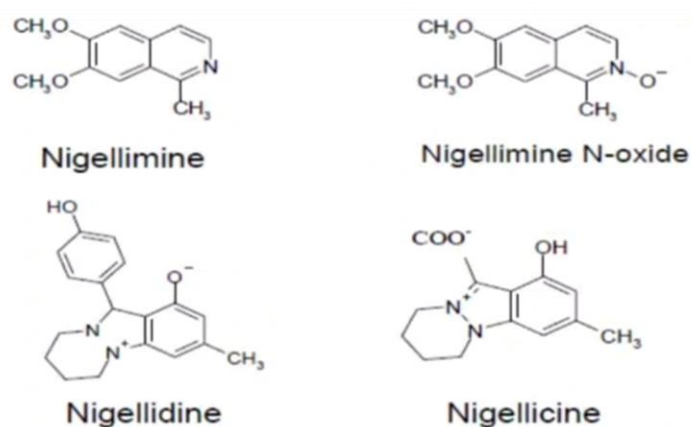


Figure 2 : Structure chimiques des plus importants alcaloïdes isolés des graines de *N.Sativa* (Orsi – Ilinares, 2005).

Ce qui est très intéressant dans la graine de Nigelle c'est cette présence concomitante d'alcaloïdes de trois structures de base différentes (alcaloïdes isoquinoléiques, alcaloïdes indazoliques, alcaloïdes diterpéniques de type-dolabellane). Ceci est une caractéristique rarement observée (Orsi – Ilinares, 2005).

- **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des composés aromatiques dont la biosynthèse constitue l'un des processus fondamentaux de la phytochimie. Ils font partie de ce que l'on appelle les composés phénoliques. Les flavonoïdes sont des substances généralement colorés très répandus chez les végétaux.

Trois flavonoïdes triglycosylés ont été isolés à partir des graines de *Nigella sativa*

- la quercétine 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucosid
- e, kæmpférol 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside
- quercétine 3- (6-feruloglucosyl) (1→2) Galactosyl (1→2) glucoside (**Merfort et al., 1997**).

Une autre étude réalisée par l'équipe de Bourgou montre quatorze composés phénoliques dans la graine de la Nigelle qui sont : l'acide gallique, l'acide par ahydroxybenzoïque, l'acide chlorogénique, L'acide vanillique, l'acide para-coumarique, l'acide férulique, l'acide trans-2-Hydroxycinnamique, l'acide trans-hydroxycinnamique, l'épicatéchine, la catéchine, la Quercétine, l'apigénine, l'amentoflavone et la flavone (**Bourgou et al., 2008**).

- **Saponoside**

Les saponosides sont des hétéroïdes neutres au terpène qui se trouvent en abondance dans les plantes. Leurs capacités tensioactives sont l'une de leurs caractéristiques distinctives : les saponosides se dissolvent dans l'eau, générant des solutions mousseuses.

La première saponine isolée par Greenisch en 1882 à partir des graines de *N. Sativa* est la mélanthine (**Karrandou A ., 2016**) .

En 1988, Akbar Ali Ansari et ses collègues ont isolé une autre saponine triterpénique à partir d'un extrait d'éthanol de graines de *Nigella sativa* du Pakistan La 3-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→3)-α-L-Rhamnopyranosyl-(1→2) -α-L-arabinopyranosyl]-28-O-[α-L- rhamnopyranosyl - (1→4) - β-D-glucopyranosyl-(1→6) -β-D-glucopyranosyl]-hédéragénine (**Kumara S.S.M et Huat B.T.K , 2001**). Toutes les saponines présentes dans les grains de *Nigella sativa* contiennent un triterpène appelé hétérogénine sous la forme d'un aglycone. (**Bruneton J. 1999**).

- **Huile végétale de *Nigella sativa***

Généralement Les huiles fixes sont des sources d'énergies, l'extraction des ces huiles se fait après broyage des graines par pression à froid ou à l'aide d'un solvant organique.

Selon l'étude de Atta (2003) Parmi les lipides on distingue :

- **Les lipides simples** représentent environ 97 % du total lipidique de l'huile végétale de *N. Sativa*. : acides gras et esters d'acides gras et d'un alcool (monoacylglycérols (4,80%) , Diacylglycérols (5,10%) et triacylglycérols (TAG) représentent la fraction la plus importante des lipides (57,5% et 63,2%)
- **Les lipides complexes** représentés par les glycolipides et les phospholipides représentent les 3 % restant sont aussi des lipides polaires (**Ramadan, M.F , 2007**) , (Singh, S., et al 2014).

Le pourcentage supérieur d'acides gras libres dans l'huile obtenue par pression à froid serait dû à l'action hydrolytique de la lipase présente dans les graines de Nigelle broyées. Cette activité serait annulée par le contact de l'huile avec le solvant durant l'extraction. (**Bassim Atta M., 2003**)

L'analyse phytochimiques de deux variétés des graines *Nigella sativa* (provenant d'Iran et de Tunisie) montre que le principal acide gras insaturé est l'acide linoléique suivi par l'acide oléique, alors que l'acide gras saturé majoritaire est l'acide palmitique. La présence d'autres acides gras ; myristoleique, palmitoleique, margarique, arachidique, eicosenoique, behénique, lignocérique à été également détectée (**Cheikh-Rouhou et al., 2007**).

- **Les glycérides** : selon l' études d'El-Mallah et de Khoddami ont permis d'en mettre en évidence une vingtaine acylglycérols différente , représentant 80% de totale TAG . Une étude réalisée en Allemagne en 2001 aussi permet de déterminer les Mono et diacylglycérols : Ce sont des mono et diesters de glycérol et d'acide gras. L'huile a été extraite par Soxhlet. Deux solvants ont été utilisés : le n-hexane et un mélange Chloroforme et méthanol . La fraction des lipides neutres (AG libres, monoacylglycérols, Diacylglycérols et triacylglycérols, stérols) a été isolée par chromatographie sur couche mince. Les lipides neutres ont été transformés en esters méthyliques et ces derniers ont été identifiés par chromatographie En phase gazeuse équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (**Ramadan ,M.F et Morsel ., 2003**)
- **Acides gras libres** : Selon l'étude de Atta (2003) AG libres représente 14,3 – 16,2 de la quantité de HV ix acides gras libres ont été mis en évidence, avec 83,7% d'acides gras insaturés (AGI) et 16,3% d'acides gras saturés (AGS). Ceci est conforme aux résultats

obtenus en 1978 par Babayan et al. parmi les AGI, le prédominant est l'acide linoléique, il représente plus de 54% des AG totaux. Puis vient l'acide oléique (23,58%). Les deux AGS majeurs sont l'acide palmitique (11,90%) et l'acide stéarique (2,28%). quatre des AG trouvés dans cette étude n'avaient pas été détectés dans celle de Babayan en 1978, ni dans celle de Zeitoun et Neff réalisée en 1995 ; ce sont les acides myristoléiques, palmitoléiques, arachidoniques, et lignocériques.

- **Glycolipides** : Ce sont des esters de glycérols et d'acides gras et la troisième fonction alcool du glycérol porte un sucre. L'équipe du Ramadan a utilisé la chromatographie sur le gel de silice pour séparer chaque glycolipide trouvé dans l'huile de *Nigella sativa*. Ainsi, les chercheurs ont déterminé que le niveau de glycolipides était de 2,59 g/100 g d'huile. Le dialactosyldiacylglycerol représentait le composé prédominant dans six des sous-classes (55,6 %), suivi par le céphéroside (11,9 %) (**Ramadan ,M.F et Morsel ., 2003**) .
- **Phospholipides** : phospholipides (PL) ont à la fois un intérêt nutritionnel thérapeutique (ils aideraient à diminuer le Taux de cholestérol, auraient un effet protecteur hépatique et amélioreraient les fonctions cérébrales) et des applications technologiques (émulsifiants ou surfactants ; ils participent à la formation de liposomes). C'est un ester de glycérols et d'acides gras, avec un groupe phosphate et un substituant basique (choline, éthanolamine ou sérine) (**aljasass, 2012**)

I-1-6- Toxicité de *Nigella sativa*

L' études de la toxicité aiguë sont d'autant plus remarquables et importantes que la *Nigella Sativa* est à la fois un élixir et une herbe médicinale est donc largement consommée dans de nombreuses parties du monde.

A 2003 l'équipe de El-HADIYAH examinent la toxicité aiguë de plusieurs principes du grain de Nigelle dans l'injection intraperitoneale chez la souris ces études résultants de :

Ceci indique que la biodisponibilité de la TQ en suspension est faible contrairement à celle de la TQ en solution huileuse qui est certainement fortement absorbée dans la circulation systémique.

D'autres résultats obtenus par l'étude de Khader et de ses collègues (2009) a révélé que la thymoquinone a un effet cytotoxique dépendant de la concentration aussi que la thymoquinone peut être convertie en espèces réactives et augmente le stress oxydatif (**Khader et al., 2009**).

En outre, un surdosage thérapeutique des graines de *Nigella sativa* peut entraîner des effets secondaires. Cette toxicité est principalement due à la concentration élevée de saponines et d'alcaloïdes dans les grains de Nigelle. (**Benzine, 2014**).

La majorité des études montrent clairement que la nigelle a un index thérapeutique élevé et une grande innocuité à des doses aussi faibles que 4 g/kg/jour (**Mahfouz et al., 1965**) ; (**Tenekoon et al., 1991**).

I -2 - L'Huile essentielle de la plante

Les huiles essentielles sont des substances naturellement volatils , Sont responsables de l'odeur distinctive de la plante. C'est pour cette raison que les plantes qui synthétisent les huiles essentielles sont connues sous le nom de « plantes aromatiques » (**Bakkali et al., 2008 ; Bruneton et al., 1999**).

Lorsque l'on étudie l'huile essentielle (HE) d'une plante, il faut absolument tenir compte des facteurs de variabilité **FV** qui entraînent des différences très importantes de sa composition et de la répartition en chacun des constituants. Ces facteurs sont : les facteurs extrinsèques : pratiques culturelles et facteurs environnementaux (température, humidité, vents...) ; l'influence du cycle végétatif et les différents procédés d'obtention. D'où l'existence de plusieurs chimiotypes selon la localisation géographique : chaque chimiotype caractérise une HE de même espèce par le nom de sa molécule principale. (**Cihan Toparlan, 2012**).

Il a été considéré que la plupart des activités pharmacologiques attribuées à *N. Sativa* provenaient de son huile essentielle. C'est pourquoi dès 1960 des études ont été entreprises sur les constituants de cette huile volatile (**Mahfouz , M et El-Dkhakhny,M . 1962**)

Les graines de *Nigella sativa* contiendraient entre 0,4 % et 0,5 % d'HE , représente entre 1,4–1,9% du poids de l'huile fixe (**Benkaci-Ali et al., 2006**). Cette HE est un liquide jaune pâle avec une odeur caractéristique. S'obtient entre autre par distillation à la vapeur d'eau de l'huile Végétale récupérée par première pression à froid (**CihanToparlan, 2012**). L'HE est récupérée dans l'éther éthylique qui est ensuite évaporé.

L'analyse par GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectroscopy), permet d'obtenir 32 constituants dont la majorité sont des monoterpènes : p-cymène (38%), Thymoquinone (30%), carvacrol (5-11%),-pinène (5-14%), α -pinène (5%), limonène (4%), Longifolène (1,2-8%), 4-terpinéol (1,98-6,59%) et t-anéthol (0,25-4,28%). La présence de thymohydroquinone, de thymol, de produits d'oxydation de la thymoquinone, Comme la dithymoquinone sont également signalés (**Burits M et Bucar F., 2000**)

Une autre méthode pour l'obtention de l'HE a été décrite par Rathee et al. en 1982 En utilisant une extraction à l'éther de pétrole (60-80°) on obtient 35% d'une huile, qui après distillation révèle l'HE à un taux de 1,5%.

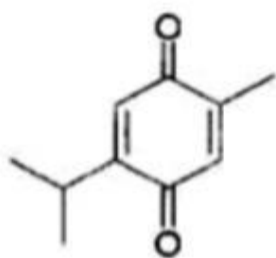
I-2-1- Composition d'HE

En 1982 l'équipe de EL-AZZOUNY déterminer 67 composé différents par la méthode CPG couplée à la spectrométrie de masse. Les composants ont été identifiés par leur temps de rétention et par comparaison de leur spectre de masse par rapport à ceux des produits de référence.

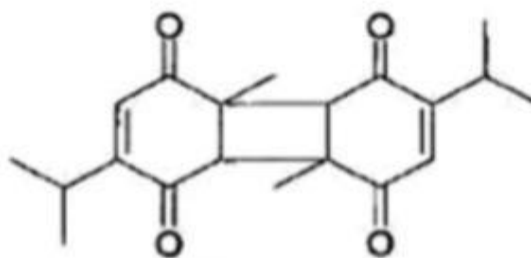
Les molécules aromatiques de l'huile essentielle sont synthétisés de deux façons :

- Le processus du terpène: commence avec l'isopentylpyrophosphate et conduit à des molécules de plus en plus complexes (mono-, sesqui-, and diterpens).
- La voie phénylpropanique : crée des produits chimiques C9 et leurs dérivés (**Morsel, 2008**).

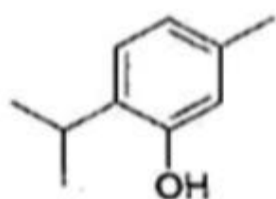
La particularité de l'huile essentielle de *N. Sativa* est la présence 4 dérivés de quinons comme toutes présenté dans la figure 03 : thymoquinone , ethymohydroquinone , dithymoquinone et un composé phénolique thymol ce sont des principes actifs de l'huile de Nigelle qui lui confèrent des propriétés importantes et pharmacologique (**Semmar et Bensikhlifa A ,.2017**).



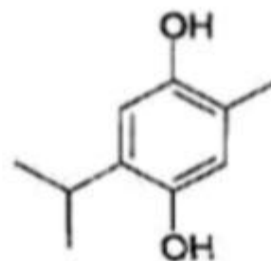
Thymoquinone



Dithymoquinone



Thymol



Thymohydroquinone

Figure 03 : Les dérivés de quinones d'HE de *Nigella sativa*

Photodimérisation de la thymoquinone conduit à la dithymoquinone anciennement nom la nigellone , la plupart des propriétés biologiques de Les huiles essentielles sont dues à son constituant principal, la thymoquinone (Orsi – linares, 2005).

I-2-3- Thymoquinone

La thymoquinone est une quinone monoterpénique : 1,4-dione,2-méthyl,5-(-1-méthylethyl) 2,5-cyclohexadiène. Elle a la particularité d'être présente à la fois dans l'huile fixe (0,05% à 0,15 %) et dans l'huile essentielle où les teneurs sont très variables suivant la provenance : de 0,6 % à parfois plus de 25%. La photodimérisation de la TQ aboutit à la dithymoquinone anciennement citée sous le nom de nigellone.

I-2-4 - Mode d'extraction de TQ (Houghton P.J et Zarkabr . 1995)

Après extraction par méthanol : eau d'un mélange d'huile et d'éther de pétrole, la phase méthanolique est soumise à une chromatographie sur colonne de silice avec 3 éluants successifs : éther de pétrole, chloroforme, méthanol. La chromatographie en phase gazeuse révèle que la thymoquinone est présente dans la phase chloroformique ; la molécule est séparée par CCM et est identifiée par ses caractéristiques chromatographiques et spectrales en comparaison avec celles de la thymoquinone de Référence (Sigma Chemical Company).

Tableau 02: les composants de l'HE de *Nigella Sativa* (1982 l'équipe de EL-AZZOUNY)

N° de pic	Temps de rétention (min)	Composants	Pourcentage
1	7.401	α -pinène	13.75
2	8.160	Camphène	Tr
3	8.746	β -pinène	3.00
4	8.924	Sabinène	1.66

5	9.452	β -Myrcène	0.94
6	9.992	α -terpinène	Tr
7	10.358	Limonène	2.55
8	11.179	Ethyl hexanoate	0.96
9	11.387	γ -terpinène	1.40
10	11.587	p-cymène	43.58
11	12.260	Terpinolène	9.08
12	15.644	Heptanal	Tr
13	15.917	Ethyl heptanoate	1.18
14	16.172	Ethyl octanoate	Tr
15	16.646	Junipène	2.41
16	17.132	Bornyl acétate	Tr
17	17.381	Terpinène-4-ol	4.25
18	18.009	α -longipinène	0.95
19	18.969	Estragole	0.91
20	19.675	α -amorphène	0.62
21	20.368	Germacrène	1.06
22	20.610	α -bisabolène	Tr
23	20.983	L-carvérol	0.79
24	25.315	Ethyl tétradécanoate	2.12

II-3- Propriétés physico-chimiques des compositions de *Nigella sativa*

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (Bruneton, 1993). D'après le tableau 03 l'équipe d'Atta en 2003 compare les

propriétés physicochimiques de l'huile de *Nigella Sativa* à la littérature . Ont utiliser deux méthodes d'extraction a froid et solvant pour déterminer ces principales caractéristiques :

- Aspect liquides à température n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles volatiles et très rarement colorées.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés.
- Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé.
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants.
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de

Tableau 03 : comparaison entre quelques propriétés physico-chimiques étudié par l'équipe d'Atta 2003 extraction à froid et par solvant

Caractéristiques physico-chimiques	Extraction à froid	Extraction par solvant
Point de fusion	-1,7 °C	-3,3°C
Contenu on chlorophylle	2,26 ppm	6,04 ppm
Densité spécifique	0,911	0,921
Indice de réfraction	1,4732	1,4721
Indice d'iode	115	128
Indice de saponification	192	203
Contenu AG et Indice de peroxyde	13,5 meq/kg	10,7 meq/kg
Teneur en insaponification	1%	1,8 %

Pour la stabilité oxydative l'étude rancimat de Cheikh-Rouhou en 2006 sur deux variétés de *N. Sativa* (tunisien et iranien) a établi un temps d'induction d'oxydation de 12 heures pour la première et 50 heures pour le second. Cette différence peut être justifiée par la présence d'un contenu naturel d'antioxydants dans l'huile iranienne. En effet, dans son étude, nous n'avons trouvé aucune différence significative dans leurs profils d'acides gras respectifs.

Il peut y avoir une corrélation significative entre les phénols, le ratio acide oléique/acide linoléique et la stabilité des tocophérols et des huiles mesurée par Rancimat pour l'huile d'olive vierge. Selon l'étude, l'huile iranienne contenait 309 mg/kg de composés phénoliques, tandis que l'huile tunisienne ne contenait que 245 mg/ kg , la stabilité oxydative de l'huile d'olive.

I – 3- Relation entre composants chimiques et activités biologiques de NS

I- 3-1- Propriété anti – bactérienne

L'huile essentielle (HE) de *NS* est connue pour ses activités antibactériennes . En 1982, Rathee et al. ont comparé l'HE avec la pénicilline et la streptomycine , l'HE a une action antibactérienne large comparable voire supérieure aux témoins positifs.

Ont démontré les effets antibactériens de l'HE de *Nigella sativa* sur divers germes de gram positif et gram négatif . Il est bien connu que HE sont des anti-infectieux efficaces, et ceci est sans aucun doute grâce à la persistance en TQ. Parce que l'HE et TQ inhibent la croissance de plusieurs germes in vitro, ils sont les deux composants de la *Nigella sativa* qui ont des propriétés anti-infectieuses. , l'extrait à base d'huile essentielle qui peut refléter l'activité de l'huile est nettement moins anti-infectieux que ces deux derniers.

Il est essentiel de souligner les effets de TQ , HE et d'huile sur *Staphylococcus aureus* in vitro.

- In vitro de la TQ , de l'HE et de l'huile (extrait à l'éther éthylique).
- In vivo sur l'infection cutanée chez la souris de l'extrait à l'éther éthylique qui révèle l'activité de l'huile et qui est supérieure à celle de la gentamicine aux doses testées.

Ce travail effectué par (**El-Dkhakhny M. et al .1965**).

La thymoquinone (TQ) est un antibactérien in vitro sur les souches commensales ou pathogènes de la flore cutanée .

La TQ inhibe la croissance de toutes les souches suivantes à la CMI de 100 ppm

- *Staphylococcus xylosus*, *S. Haemolyticus*, *S.intermedius*, *S.epidermidis*, *S.hominis*, *S.cohnii* , *S.intermedius*, *S.intermedius* , *Micrococcus luteus* ,

- La TQ n'inhibe pas la croissance des différentes espèces de *Pseudomonas aeruginosa* .

- La TQ est très intéressante comme antibactérien de la flore cutanée car pour la plupart des souches étudiées sur lesquelles elle est active, sa CMI se situe entre 25 et 50 ppm (**Slimane S. 2001**).

L'extrait à l'éther éthylique a un bon effet antibactérien sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* à 400 g/disque et a une action antibactérienne synergique avec la streptomycine et la gentamicine. (**Hanafy M.S , Et Hatem M.E 1991**).

B- Extraits aqueux, alcoolique et alcaloïdes : La meilleure activité est obtenue avec la fraction méthanolique et ceci est dû à la TQ (**Morsi N.M , 2000**).

I- 3 - 2- Action anti-oxydant

Les graines de *Nigella sativa* ayant traditionnellement été utilisées dans les affections précédemment citées et dans l'alimentation; il était logique de pousser plus loin la recherche d'une éventuelle propriété antioxydante (**Burits M et Bucar F . 2000**).

Plusieurs tests ont été utilisés pour mettre en évidence les propriétés anti- ou pro-oxydantes d'une substance ou d'un extrait ainsi que son mode d'action (réducteur, consommateur de radicaux libres, chélateur de métaux oxydants et suppresseur de l'oxygène unique) , (**Ramadan M.F et M oersel J.T , 2003**).

Les différentes études in vitro montrent clairement que l'extrait de grain de Nigelle à base d'alcool, l'huile végétale HV et l'huile essentielle HE de nigelle et le TQ ont tous des propriétés antioxydantes.

Voici comment l'huile, les huiles essentielles et le TQ exercent leurs actions antioxydantes:

- Prévention de la peroxydation des lipides

- Piégeage du radical hydroxylique; Donneur d'un proton ou d'un électron; Incapacité de se lier aux métaux prooxydants au TQ et à l'huile , absence d'effet pro-oxydant sur le TQ en ce qui concerne

les sucres ou l'ADN (ceci aurait encore besoin d'être confirmé pour les huiles essentielles et l'huile par le test de la bléomycine); et puissant piégeage de l'anion de superoxyde pour le TQ.

Pour l'huile, d'autres molécules telles que les phospholipides et autres lipides polyinsaturés, les stérols, certains phénols et les tocophénols peuvent travailler en concert avec le TQ pour augmenter la capacité antioxydante de l'huile.

Les quatre molécules antioxydantes identifiées dans les huiles essentielles (TQ, carvacrol, anéthol et 4-terpineol) semblent travailler ensemble de manière synergique, soit indépendamment, soit en combinaison avec d'autres molécules anti-radicales trouvées dans des huiles essentielles mais non identifiées par cette étude.

- L'HE est la substance la plus puissante (1000 fois plus active que) pour inhiber la peroxydation des lipides. (**Houghton P.J et Zarka R. 1995**) , (**Burits M et Bucar F . 2000**).

I – 3 -3 - Action anti – inflammatoire

Le groupe EL-MAHDY dans ces études réalisées en 1997 en Saudi Arabia, les effets anti-inflammatoires dès la nigelle sur l'œdème et le granulome a été comparés à celui de l'indométacine.

- L'indométacine est un anti-inflammatoire non stéroïdien, appartenant au groupe des indoliques, et possède les propriétés suivantes : activités antalgique, anti-inflammatoire, antipyrétique et inhibition des fonctions plaquettaires.

Dans les résultats obtenus l'HE et la TQ montrent un effet anti-inflammatoire chez le rat remarquable (réduction de l'œdème et du granulome) comparable à celui de l'indométacine lors de l'administration par Voie i.p. des extraits de Nigelle.

- La TQ a un effet anti-inflammatoire supérieur à celui de l'HE.

La voie orale est visiblement moins active et ceci pourrait être dû à la métabolisation hépatique de la TQ en dithymoquinone par la DT-diaphorase. (**Mutabagani A et El-Mahdy S.A.M . 1997**).

I- 3 – 4- Action- immunomodulatrice

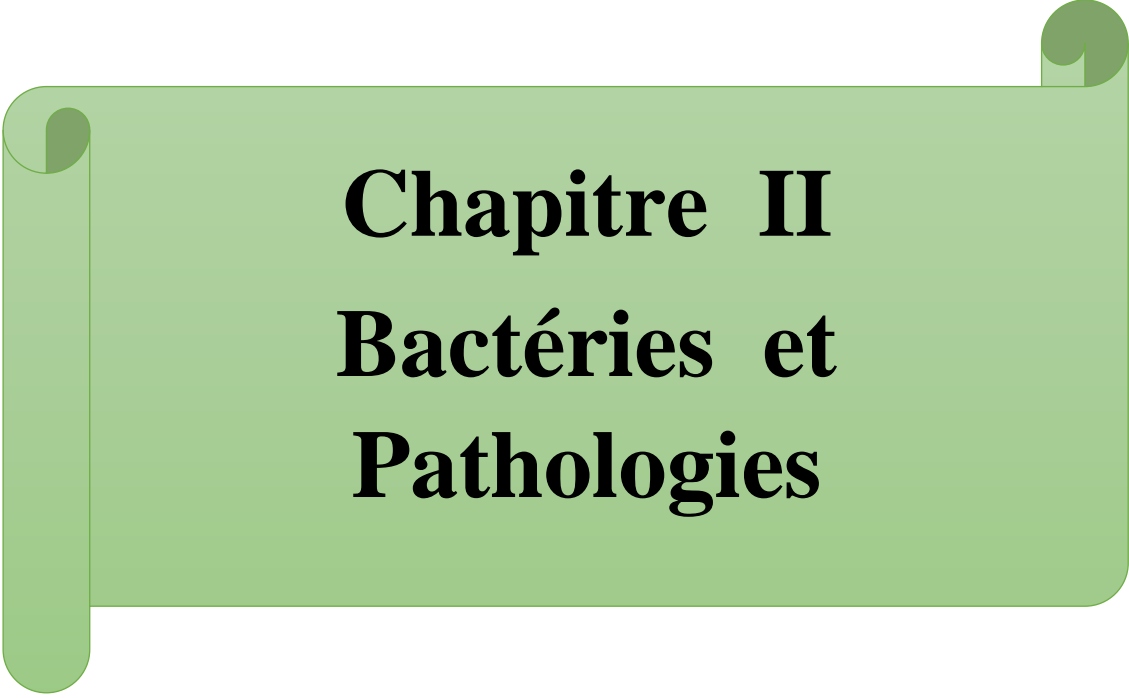
L'emploi traditionnel de la Nigelle dans certaines pathologies comme les infections et les affections Inflammatoires amène à rechercher d'éventuelles propriétés immunomodulatrices. El-Kadi et al. Furent les premiers à montrer (en 1987) que la Nigelle avait des effets immunomodulateurs Sur des lymphocytes T humains in vitro. (**Al-Jabre S et Al-Kloby O.M 2003**)

Selon l'étude du groupe d'AL-SEDAIRY La fraction protéique FP de la graine de Nigelle stimule les lymphocytes T humains in vitro avec augmentation de la sécrétion d'IL3, suggérant qu'elle aurait une action plus spécifique sur le sous-groupe CD4+ des lymphocytes T. La fraction protéique de bas poids moléculaire semble la plus active sur la stimulation lymphocytaire. (**Haq.A et Al-Szdairy S.T ., 1995**)

I – 3 – 5- Action cytotoxique et anti tumorale

La TQ a un mode d'action comparable à certains médicaments chimiothérapeutiques en arrêtant du cycle cellulaire et indiquant l'apoptose par modulation du taux de transcription des agents pro- et anti-apoptiques. Des études sont nécessaires pour valider cet effet chez l'homme. (**Worthen D.R . et al 1998**)

Donc tout comme il a des propriétés thérapeutiques dues par *Nigella sativa*, il a aussi des effets toxiques, il faut donc respecter les doses utilisées.



Chapitre II

Bactéries et

Pathologies

II-1- Bactéries utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile de la *Nigella sativa L*

Plusieurs souches bactériennes sont reconnaissables par leur pouvoir de provoquer des pathologies chez l'homme et leur sensibilité aux a été bien étudiée pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles pour combattre les maladies infectieuses entraînées par ces bactéries

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielles de *Nigella sativa L* vis-à-vis de trois souches bactériennes pathogènes :

Escherichia coli, *Klebseilla pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* .

II-2- Classification des bactéries

la classification de la coloration de Gram permet de diviser les bactéries en deux groupes, basé sur la différence de la structure et de la composition chimique de leur paroi (**Maier et al.,1999** ;

Bousseboua ,2002). On peut distinguer:

II-2-1.Bactéries à Gram négatif

Escherichia coli

➤ Position taxonomique

Règne : *Bacteria*

Embranchement : *Protobacteria*

Classe : *Gamma proteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Escharichia*

Espèce : *Esherichia coli*

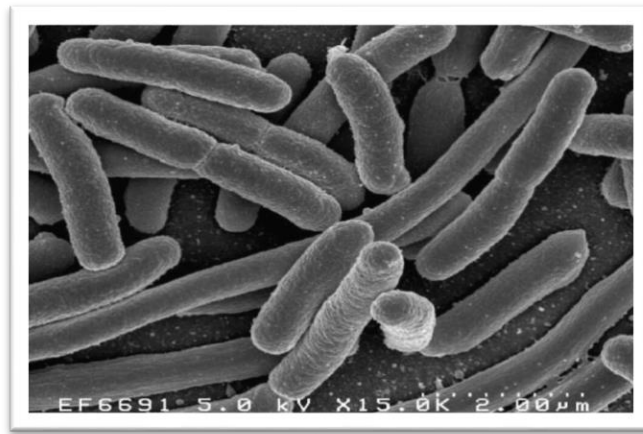


Figure 4: Photographie au microscope optique de bactéries *Escherichia coli*

➤ Description et pathogénicité

✚ *Escherichia coli*, (figure 4) également appelée colibacille et abrégée en *E. coli* Elle a été isolée pour la

première fois par *Escherich* en 1885. Elle est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fondamentalistes (**monteil.H.avril J,1992**). Elle est actuellement la seule espèce homologuée du genre *Escherichia* (ferron. A 1976). est une bactéries intestinale (gram négatif) et compose environ 80% de notre flore intestinale aérobie .certaines souches d'E.coli peuvent être pathogène pour l'appareil urinaire (**monteil.H.avril J1992**),(**Bereche.P, et al 1989**),entraînant aussi des gastro-entérites,méningites .

✚ *Klebsiella pneumoniae*

➤ Position taxonomique

Règne : *Eubacteria*

Embranchement : *Protobacteria*

Classe : *Gamma proteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *klebsiella*

Espèce : *klebsiella pneumoniae*

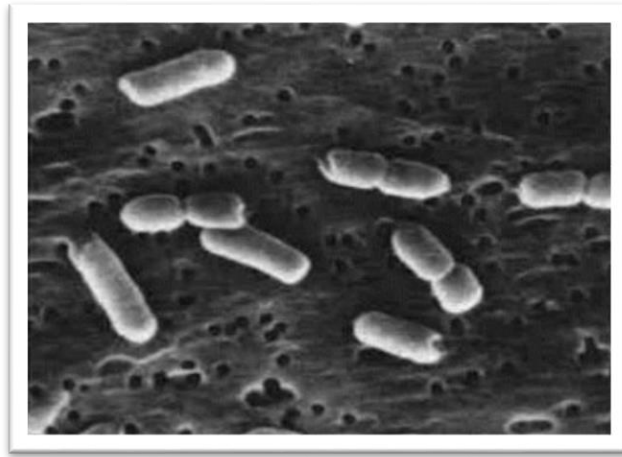


Figure 5 : Photographie au microscope optique de bactérie *klebsiella pneumoniae*

➤ Description et pathogénicité

C'est un bacille (voir figure 5) Gram négatif. C'est une espèce isolée dans l'environnement à partir d'échantillon de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées, de végétaux et de muqueuses des mammifères, en particulier la flore fécale. Elle est responsable d'infections broncho pulmonaires et intra-abdominales (Carpentier, 1990). C'est surtout actuellement un agent d'infections néonatales (Posdcun et Ullman, 1998). Elles sont souvent multi résistantes aux antibiotiques.

III-2-2 Bactéries à Gram positif

✚ *Staphylococcus aureus*

➤ Position taxonomique

Règne : *Eubacteria*

Embranchement : *Fimicutes*.

Classe : *Bacilles*.

Ordre : *Bacillales*.

Famille : *Stphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus*

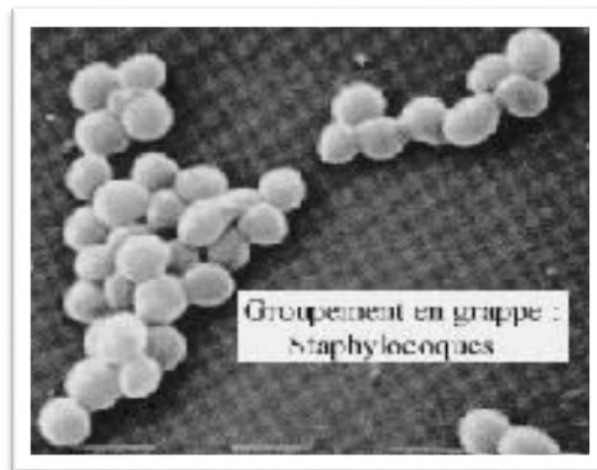


Figure 6 : Photographie au microscope optique de bactérie *Staphylococcus aureus*

➤ Description et pathogénicité

Elle a été identifiée de l'aube de l'ère pasteurienne par Pasteur en 1820 (**monteil.H.avril**

J,1992) C'est une bactérie de forme arrondie comme c'est présenté dans la figure 6 groupée en grappe de raisin. Elle est gram positif de 0.5 à 1.5 μm de diamètre et facultativement anaérobie immobiles, non sporulés. les toxi-infections alimentaires à S. Aureus sont Pathogène le plus fréquent (infections nosocomial), car ubiquitaire et

virulent (**Pibiri, 2005**) et dues à l'ingestion d'aliments, et responsable d'un très grande nombre d'infection chez l'homme et l'animale, le plus souvent impliqués dans les infections cutanés muqueuses et digestives (**Bereche.P, et al 1989**).



Partie II
Étude
expérimentale

I-Présentation du site d'accueil

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Microbiologie de la Faculté de SNV de l'Université 20 AOÛT 1955-skikda pendant une durée allant du 01/05/2023 au 15/05/2023.

II- Matériel

II-1 Matériel végétal

Ce travail est appliqué sur l'huile essentielle obtenue à partir des graines de *Nigella sativa* sur deux sources différents .

❖ Huile essentielle commerciale « A »

C'est une huile essentielle des graines de nigella sativa de la marque "معصرة المدينة المنورة" obtenu par pressage à froid , le falcon de HE est montré dans la figure 7



Figure 7 : Huile commerciale « A » de graine de Nigelle

❖ Huile essentielle commerciale « B »

C'est une huile essentielle des graines de nigella sativa de la marque "HEMANI" obtenu par pressage à froid , le falcon de HE est montré dans la figure 8



Figure 8: Huile commerciale « B » de graine de Nigelle

II-2 Matériel biologique

Le choix des micro-organismes a été porté sur 3 souches bactériennes provenant essentiellement du laboratoire Al-khudair Skikda.

Tableau 4 : Nature et origine des souches testées

Bactérie	Type de la bactérie	Origine
<i>Escherichia coli</i>	Bacille Gram -	Les trois souches utilisées provenant de laboratoire Al- khudair Skikda
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	Bacille Gram -	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci Gram +	

II-3 Matériel non biologique

tout le matériel utilisé dans ces études en laboratoire est résumé dans l'annexe

III- Méthodes

III-1 Revivification des souches bactériennes

Dans cette opération on réalise des repiquages sur milieux liquides (Bouillon nutritif), Des échantillons de cultures bactériennes sont prélevés à l'aide d'une anse de platine à partir de cultures conservées. Ces petites gouttes de culture sont ensuite inoculées dans des tubes à essai contenant 5 ml de Bouillon nutritif, puis incubés pendant 24 h à 37 °C pour leur enrichissement

Après enrichissement, les cultures sontensemencées par méthode d'épuisement sur un milieu solide sélectif (Chapman pour *Staphylococcus aureus*, Héктоen pour *Escherichia coli* , *Klebsiellapneumoniae*). Les boites de Pétri ainsi préparées sont incubées dans l'étuve à 37 °C pendant 24 h (**Joly et Reynaud,2003**) .

III-2- Etude morphologique

III-2-1 Etude macroscopique

Ce test permet de mettre en évidence la morphologie des colonies obtenues sur des milieux solides, à partir de l'observation à l'oeil nu pour déterminer l'aspect, la taille, la forme et la couleur des colonies (**Benyoucef , 2019**).

III-2-2-Etude microscopique

III-2-2-1 Examen à l'état frais

Permet d'observer des bactéries vivantes et apporter des renseignements sur la Morphologie, le mode de regroupement et la mobilité (**Camille, 1998**).

III-3- Examen après coloration de Gram

La réalisation d'une coloration de Gram nécessite la préparation d'un frottis et de le fixer sur une lame propre. Par la suite, 1 à 2 gouttes de violet de gentiane sont déposées sur le frottis préparé pendant 1min, il est ensuite rincé rapidement à l'eau distillée. Le lugol est ensuite versé pendant 1 minute et de nouveau rincé rapidement. La lame est ensuite décolorée par l'alcool à 95% entre 15 à 30 secondes puis rincé à l'eau distillée.

On ajoute après la fuschine pendant 10 à 30secondes et rincé à l'eau distillée. Ensuite les lames sont rincées et séché en utilisant le papier absorbant et le bec Bunsen . L'observation au microscope

optique est réalisée à l'objectif (GX 100) (déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis coloré). (Camille, 1998 ; Camille et Bernard, 2003 ; Lansing et al., 2003)

Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif (+) et les bactéries colorées en rose sont des bactéries à Gram négatif (-) (Delarras , 2007)

III-4 Etude de l'activité antibactérienne

III-4-1 Méthode de diffusion des disques sur milieu solide (aromatogramme)

Cette technique a été décrite par plusieurs auteurs Zaika, en 1989 et Tyagi et al., en 2013 . C'est la méthode que nous avons adoptée pour évaluer le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *la nigelle* elle est basée sur une technique utilisée en bactériologie appelée l'antibiogramme. Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du produit à tester en milieu solide, dans une boîte pétri préalablementensemencée. L'agent antimicrobien diffuse dans le milieu, créant une zone claire d'inhibition de croissance du germe, autour du disque chargé d'agent antimicrobien .(voir figure 9)

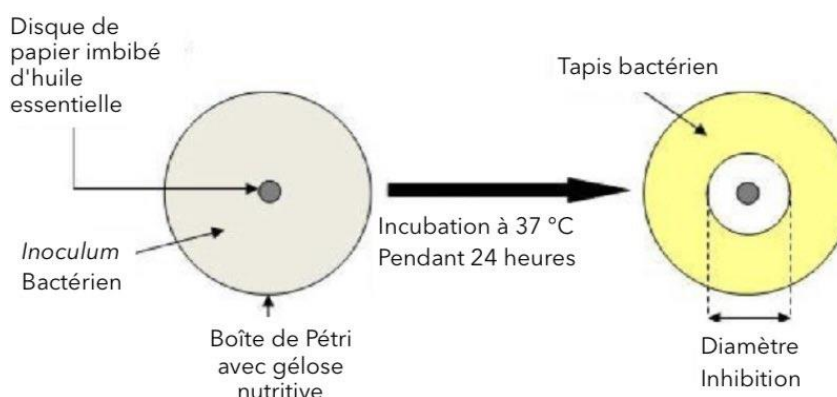


Figure 9: Détermination in vitro du pouvoir antibactérien

III-4-2 Préparation des milieux de culture

- Liquefier le milieu de culture Muller Hinton pour les bactéries dans un bain mari
- La gélose Muller-Hinton (MH) est coulée en boîte de pétri sur épaisseur de 4 mm
- Fermer et laisser refroidir et solidifier à température ambiante.

III-4-3 Préparation de l'inoculum

- Chaque espèce est ensemencée au préalable sur une gélose nutritive, pour obtenir une culture de 20 à 24 h. Ensuite, en a 3 souches de bactérie sont mises en suspension dans des tubes contenant 5 ml de l'eau physiologique.(voir la figure 10)



Figure 10 : Préparation d'inoculum

III-4-4 Ensemencement

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage à partir d'un inoculum. À l'aide d'un écouvillon stérile, introduit dans la suspension bactérienne et essoré contre la paroi interne du tube, réaliser des stries parallèles et aussi serrées que possible à la surface d'une boîte de pétri préalablement coulée avec la gélose de Mueller- Hinton. Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte 60° et en tournant l'écouvillon sur lui-même.(**Rahal, 2003**) (figure 11).



Figure 11 : Ensemencement des souches

III-4-5 Application des disques

A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque imprégné de l'huile à tester et le déposer à la surface de la gélose. Ensuite, Les boîtes sont fermées et laissées à une température ambiante durant

30minutes. Les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve à une température de 37°C pendant 24heures. (Mehani et segni, 2014) (voir Figure 12)

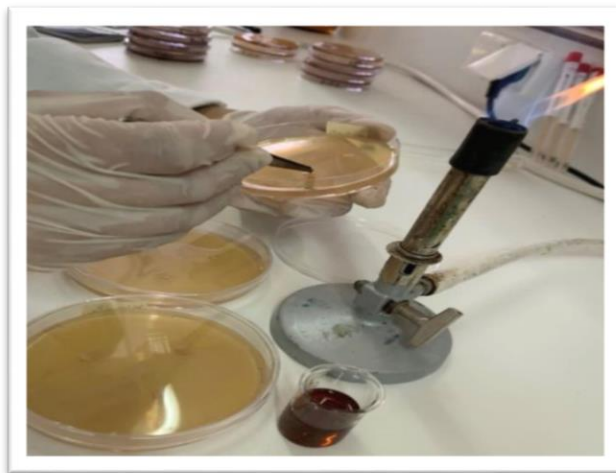


Figure 12 : Application des disques

III-4-6 Lecture

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition, caractérisé par une zone n'ayant aucune croissance bactérienne autour du disque à l'aide d'un pied de coulisse ou règle en (mm)

.Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition. (Ponce et al, 2003)

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre <8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : >20mm.

III-5 Méthode détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice

La méthode de macro-dilution, l'une des premières méthodes développées et toujours considérée comme une référence, repose sur le même principe de base que la micro-dilution au bouillon. Cependant, dans cette méthode, des tubes à essai contenant des concentrations différentes de l'agent antimicrobien sont utilisés, tout en maintenant le même volume. Les microorganismes d'essai sont inoculés dans ces tubes à des concentrations standardisées. Par la suite, tous les tubes de dosage sont placés dans un incubateur à température ambiante (35-37 °C) pendant une durée de 18 à 24 heures. Après l'incubation, les tubes sont examinés afin de détecter les changements de turbidité,

Qui servent d'indicateur de croissance microbienne. La CMI de l'extrait de plante peut être déterminée en identifiant la concentration la plus faible de l'agent antimicrobien qui inhibe visiblement la croissance du microorganisme testé. (Schwalbe et al, 2007; Das et al, 2010).

Les essais de détermination de la CMI sont effectués selon la méthode de dilution en série. Selon le protocole décrit par (Baudry et Brézellec, 2006) avec des modifications dilution en bouillon nutritif

- Diluer l'HE dans le Diméthylsulfoxyde (DMSO) (1/4, 1/8, 1/16, 1/32)

Le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, (Gachkar et al., 2007) n'a aucun qui ont prouvé que le DMSO pouvoir antibactérien puissant. Après incubation pendant 24h à 37 C°, La CMI est déterminée en prenant en compte la plus faible concentration en HE qui inhibe tout développement bactérien. (voir figure 13)

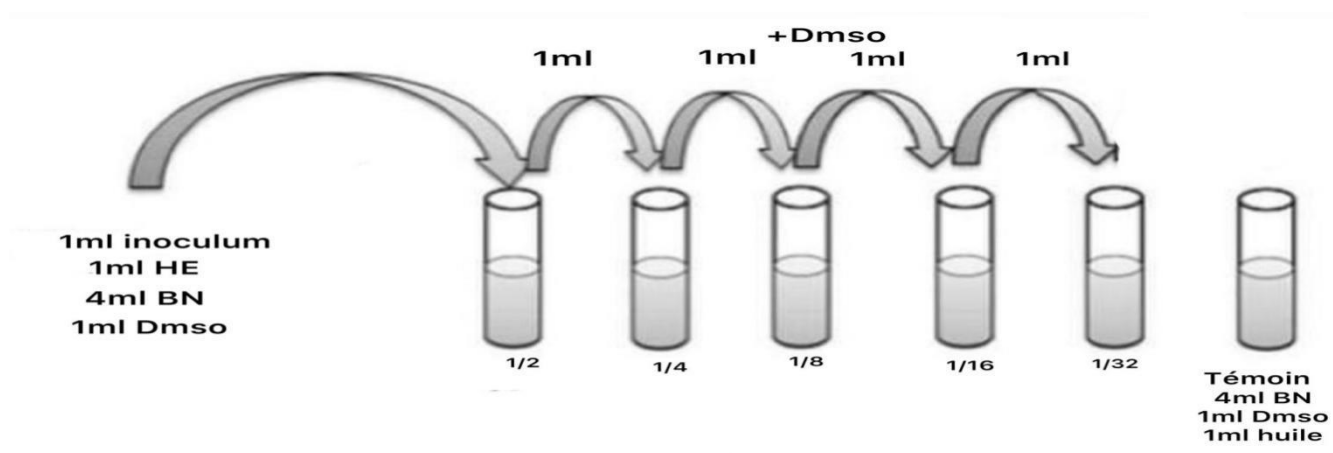


Figure 13 : Protocole de méthode macrodilution de CMI

A green scroll graphic with a light green background and a darker green border. The scroll is unrolled on the left and right sides, with the top and bottom edges curved. The text is centered on the scroll.

Partie III
Résultats
et discussion

III Résultats

III-1 Observation macroscopique

- Pour *E. coli* et *Klebsiellapneumoniae* : Sur la gélose Hektoen, la bactérie en question présente une caractéristique distinctive de développement, modifiant la couleur du milieu en rouge. De plus, les colonies sont convexes, rondes et de couleur crème à rosée. Les colonies formées par cette bactérie ont été observées avec une teinte saumon.
- Pour *Staphylococcus aureus* : Sur la gélose Chapman, la bactérie en question présente une caractéristique distinctive de développement en provoquant un changement de couleur du milieu, passant du rouge au jaune, par dégradation du mannitol. De plus, les colonies sont circulaires, convexes et pigmentées d'une teinte jaune doré, Cette combinaison de caractéristiques permet d'identifier et de différencier cette bactérie lorsqu'elle est cultivée sur le milieu de gélose Chapman. (voir figure 14)

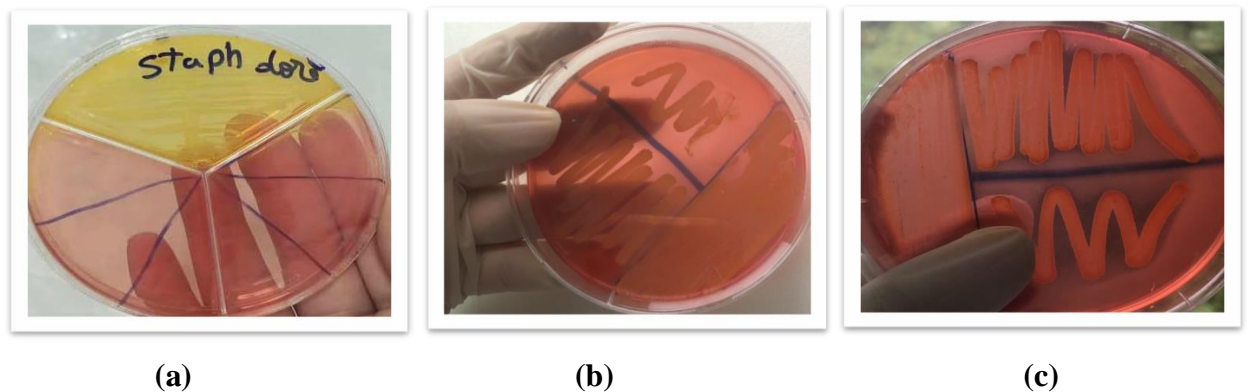


figure 14 : l'aspect macroscopique des colonies des différentes souches (a) *Staphylococcus aureus* , (b) *Klebsiellapneumoniae* , (c) *E. coli*

III-2 Observation microscopique

III-2-1 Examen à l'état frais

Tableau 05 : observation microscopique de 3 souches bactériennes

Les souches	La forme	La mobilité	Gram
<i>S. aureus</i>	Sphérique	immobiles	Positif
<i>E. coli</i>	Cocco bacille	Mobile	Négatif
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	Bacille	immobiles	Négatif

III-2-2 Examen après coloration de Gram

Après coloration de Gram, l'observation microscopique a révélé la présence :

- Pour *E. coli* : des bacilles à Gram négatifs de couleur rose.
- Pour *S. aureus* : de cocci à Gram positif, isolés ou groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin de couleur violette.
- Pour *Klebsiellapneumoniae* : des bacilles à Gram négatifs de couleur rose.(voire figure 15)

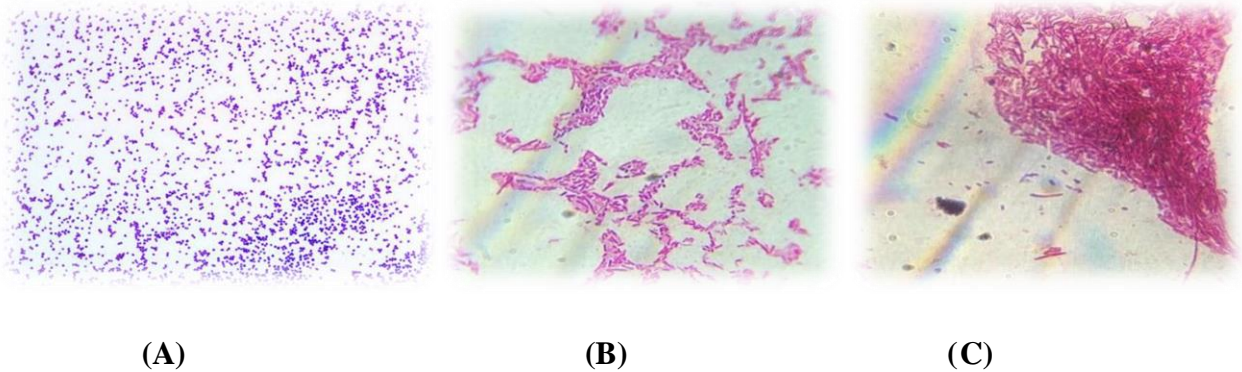


Figure 15 : Observation microscopique des 3 souches (A) *S. aureus*, (B) *Klebsiellapneumoniae*, (C) *E coli*

III-3 Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation qualitative de l'activité antibactérienne de notre huile essentielle a été faite sur trois bactéries différentes : *E. coli*, *S. aureus* et *Klebsiellapneumoniae* avec 2 sources d'huile de commerce par la méthode des aromagrammes. Le pouvoir antibactérien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm). Le diamètre moyen de la zone d'inhibition observée autour des puits l'huile essentielle après 24 h d'incubation à 37C° présenté par les figures (16,17), ainsi que leurs diamètres d'inhibitions sont résumés dans les tableaux (6,7).

🚩 Huile essentielle commerciale « A »:



(a)

(b)

(c)

Figure 16 : photographie montrant l'action d'huile essentielle commerciale « A » de la *Nigella sativa* sur les Souches bactériennes : (a) *S. aureus* (b) *Klebsiellapneumoniae* (c) *E. coli*

Tableau 06 : Activité antibactérienne d'huile essentielle commerciale « A »:

Les souches	Zone d'inhibition	Sensibilité des souches bactériennes
<i>S. aureus</i>	diamètre 21mm	Extrêmement sensible (+++)
<i>E. coli</i>	diamètre < 8 mm	Non sensible (-) ou résistante
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	diamètre 10mm	Sensible (+)

D'après les résultats représentés dans le tableau et la figure 16 nous constatons que :

- La souche *Staphylococcus aureus* est la souche la plus sensible parmi les souches testés et d'après l'échelle de mesure de l'activité antibactérienne de huile essentielle commerciale « A » de la *Nigella sativa* la souche *S. aureus* est extrêmement sensible avec un diamètre d'inhibition (21 mm).
- La souche *Klebsiellapneumoniae* est sensible à l'effet de l'huile essentielle commerciale « A » de la *Nigella sativa* avec un diamètre d'inhibition (10 mm).

- La souche *E. coli* est une souche non sensible (résistantes) à l'effet de l'huile essentielle commerciale « A » de la *Nigella sativa* avec un diamètre d'inhibition ($D < 8$).

✚ **Huile essentielle commerciale « B »:**

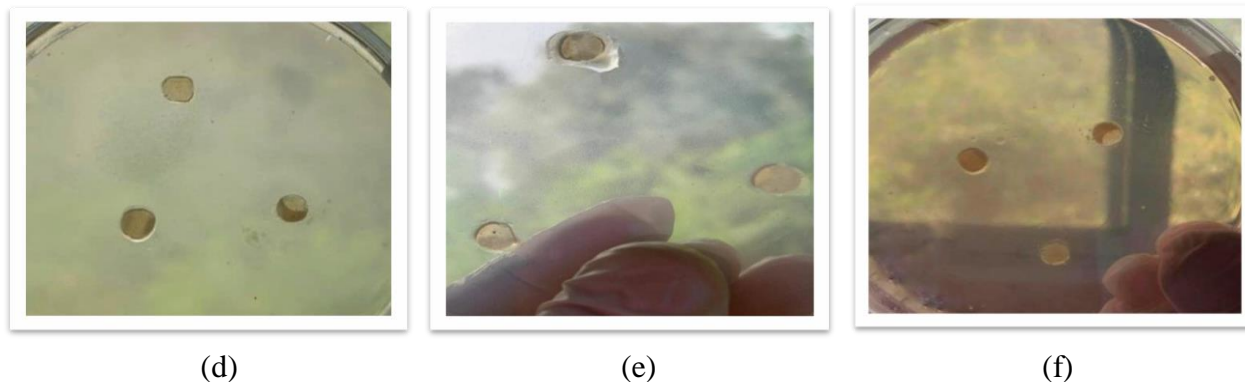


Figure 17: photographie montrant l'action d'huile essentielle commerciale « B » de la *Nigella sativa* sur les

Souches bactériennes : (d) *Klebsiella pneumoniae* (e) *S. aureus* (f) *E. coli*

Tableau 7: Activité antibactérienne d'huile essentielle commerciale « B »

Les souches	Zone d'inhibition	Sensibilité des souches bactériennes
<i>S. aureus</i>	Diamètre 9 mm	Sensible (+)
<i>E. coli</i>	Diamètre < 8mm	Non sensible (-) ou résistante
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Diamètre < 8mm	Non sensible (-) ou résistante

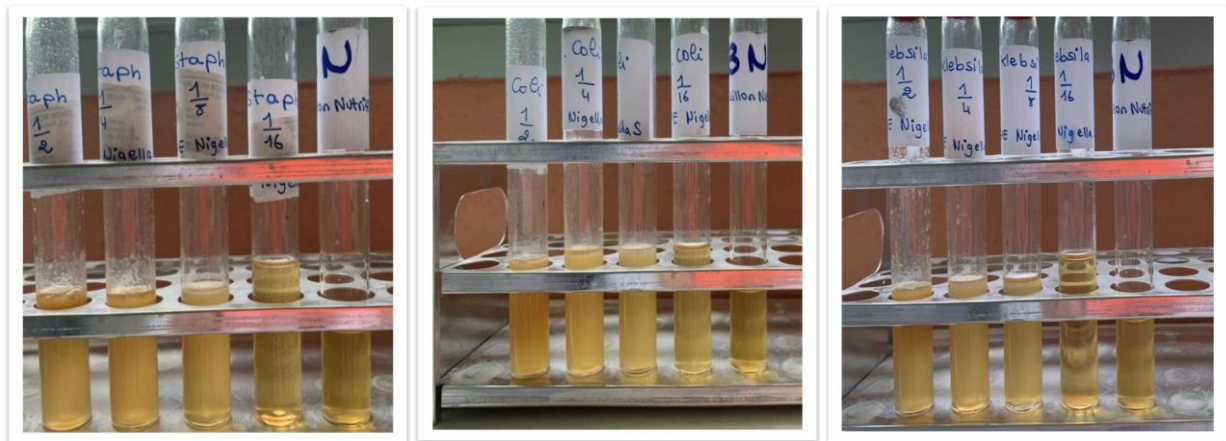
D'après les résultats représentés dans le tableau et la figure 17 nous constatons que :

- la souche *S. aureus* est sensible à l'effet de huile essentielle commerciale « B » de la *Nigella sativa* avec un diamètre d'inhibition (9 mm)
- Les 2 souches *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* est Non sensible (-) ou résistante à l'effet de huile essentielle commerciale « B » de la *Nigella sativa* avec un diamètre d'inhibition (<8mm)

III-4 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae* et *Staphylococcus aureus* étaient 0,0625 mg /ml. Ces valeurs montrent que les bactéries de Gram- et Gram+ sont sensibles au l'huile essentielle commerciale « A » de la *Nigella sativa*

Les résultats des CMI sont montrés dans la figure 18 :



(a)

(b)

(c)

Figure 18 : Photographie montrant la CMI d'huile de *Nigella sativa* sur 3souches (a) *Staphylococcus aureus*, (b) *E. coli*, (c) *Klebsiellapneumoniae*

Discussion

Dans l'étude morphologique des trois bactéries : *E. coli* et *Klebsiellapneumoniae* et *Staphylococcus aureus*, Nos résultats concordent avec ceux obtenus précédemment par Murray, P et al en 2020, qui ont également noté que les colonies d'*E. Coli* sont généralement de petites colonies rondes, et de couleur crème à rosée et pour *Klebsiellapneumoniae* aussi peuvent être rondes et crème à rosée et pour *Staphylococcus aureus* apparaissent généralement comme de petites colonies circulaires, convexes et de pigmentées d'une teinte jaune doré.

Les effets de HE de *Nigella sativa L* sur divers gram + et gram – par Al-dakhkhny et son groupe en 1965, les premiers travaux d'El-Fatraty à 1975 par la méthode des disques permettaient de tester l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de NS il en ressortit une grande activité contre les bactéries Gram positif et surtout (*S. Aureus*).

Dans ce travail, on constate que l'HE« CA » supérieurement active contre la majorité des souches bactériennes étudiées, tandis que l'HE«CB » est moyennement active avec *Staphylococcus aureus*, et faiblement active contre les Grams négatifs.

Au terme de notre étude L'HE« CA » a une activité antibactérienne comparable à tels de l'étude de Mariam et Abu-Al-basal en 2009. Ils ont également trouvé une activité significative d'un huile pure de *Nigella sativa* sur les *S. Aureus* avec un diamètre de 24 mm , ont constatant une zone d'inhibition de (+ \leq 21 mm pour *S.aureus*) ça confirme que notre HE « CA » est une huile essentielle pure commerciale ont constatant aussi que HE « CB » présente une faible activité d'inhibition de (9 mm sur *S.aureus*) cela peut être expliquer par la dilution de HE « CB » qui est moins concentré par rapport à l'HE « CA » , on suppose que mélanger par d'autres huiles végétales (HV inconnu) , ces résultats cités dans l'étude de El – Kamaly sur l'HE de les graines de la nigelle à la concentration de 4,4 mg/ml exerce un effet antibactérien supérieur ou égal à l'amoxicilline (20 μ g/ml) sur les bactéries *S.aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* , ont signalé que 4,4mg/ml c'est une concentration élevé .

Les graines de *N. Sativa* utiliser dans l'étude d'en Mariam et abu-al-basal en 2009, achetées en février 2008 dans un magasin d'herbes à Irbid, en Jordanie. Les graines ont été authentifiées au Herbarium du Département des Sciences Biologiques, Université Al-al-Bayt, Mafraq, Jordanien de effectuer l'analyse de l'extraction au niveau de la même université , Dans notre étude comparative les deux huiles essentielles différentes examinées dans laboratoire de SNV au niveau de l'université de Skikda on utilise une source de HE "CA" (origine indienne) et HE "CB" (Pakistan). , nous avons constatant que la propriété antibactérienne de l'HE liée aux FV, ainsi que les facteurs extrinsèques, les pratiques culturelles et environnementales, le cycle végétatif et les procédés d'obtention, sont caractérisés par divers chimiotypes et c'été déjà décrit par Cihan Toparslan en 2012.

Escherichia coli présente une résistance vis-à-vis des deux huiles, ce qui a été signalé également dans notre travail et aussi dans le travail mené par Mariam et Abu-Al-basal, 2009 ont également noté une activité antibactérienne non significative contre certaines bactéries à Gram négatif (tels que *E. Coli*).

Dans ce cas l'huile de *N. Sativa* HE « CA » et HE« CB » montrent une faible activité antibactérienne contre *E. Coli*, *Klebsiellapneumoniae* , résultat prouvé par les travaux de Harzallah, 2012 qui a déclaré que cette l'huile à un faible pouvoir d'inhibition sur *E. Coli* traduit par un diamètre de 7mm.

Les valeurs de CMI des souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae* et *Staphylococcus aureus* étaient 0,0625 mg /ml, Ces valeurs montrent que les bactéries de Gram- et Gram+ sont sensibles au HE « CA » de *Nigella sativa*.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus précédemment par Slimane en 2001, qui ont également noté une sensibilité à la *Nigella sativa* avec des CMI allant de 25 à 50 ppm sur la plupart des souches étudiées sur lesquelles elle est active : *Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.



Conclusion

Conclusion et perceptives

La *Nigella sativa* est une plante herbacée de la famille des *Renonculacées*, était utilisée depuis des siècles au médecine traditionnelle comme remède des maladies humaines puisqu'elle contient dans son huile essentielle des composants chimiques de valeur thérapeutique, on a ciblé leur efficacité antibactérienne.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles commerciales différentes de *Nigella sativa* a été réalisée par la méthode des disques (aromatogramme)

L'objectif de cette étude est l'évaluation de pouvoir antibactérienne des deux huiles essentielles commerciales « **A** » et « **B** » obtenues à partir de graines de la nigelle par pressage à froid .Les résultats des tests qui était réalisés montrés que:

Pour huiles essentielle commerciale « **A** », la souche *S. aureus* est extrêmement sensible avec un diamètre d'inhibition (21 mm), ainsi que La souche *K.pneumoniae* est sensible avec un diamètre d'inhibition (10 mm) par contre La souche *E. coli* est une souche résistante avec un diamètre d'inhibition ($D < 8$).

Donc il y a un effet inhibiteur contre les bactéries pathogènes à Gram + et à Gram - ce résultat coïncide avec les paroles (HADITH NABAWI) du prophète qui dit que habbat aswada peut guérir toutes maladies.

Pour huiles essentielle commerciale « **B** » la souche *S. aureus* est sensible avec un diamètre d'inhibition (9 mm), par contre Les 2 souches *E. coli* et *Klebsiellaapneumoniae* sont résistante (-) avec un diamètre d'inhibition (<8mm)

Alors nous constatons que l'huile commerciale « **A** » de la marque "معصرة المدينة المنورة"

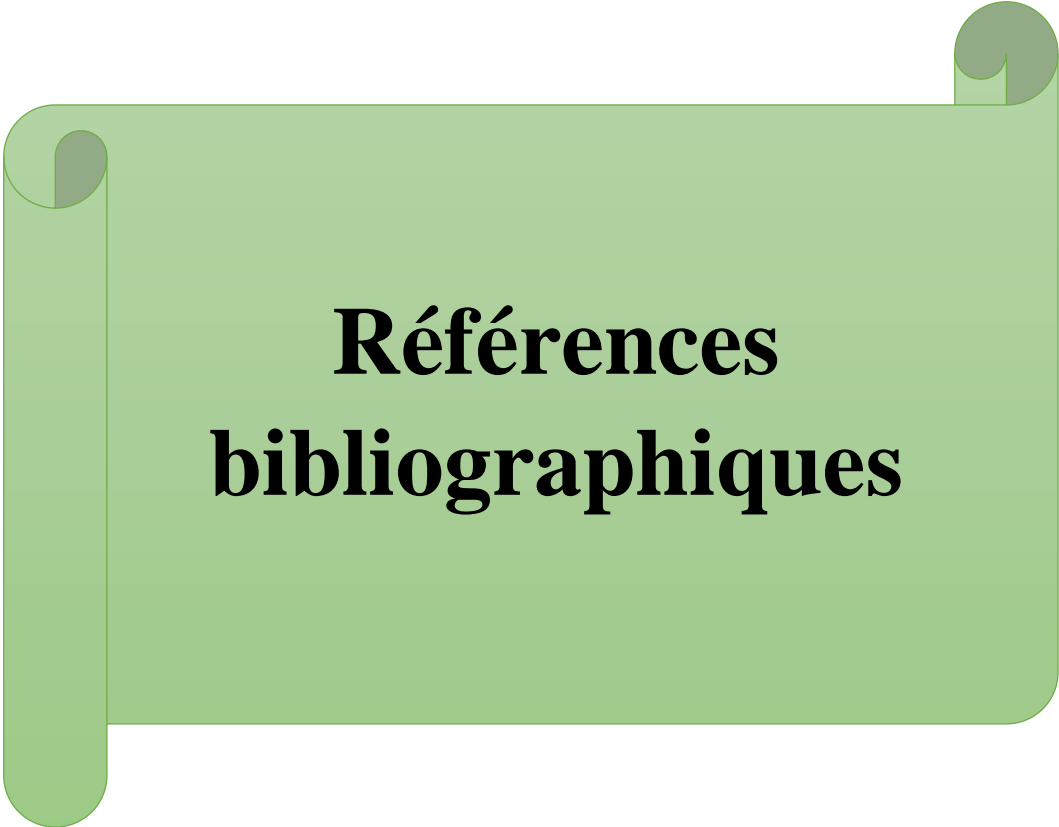
De la NS a une très bonne activité antibactérienne que l'huile commerciale « **B** » de la marque "HEMANI"

Les résultats obtenus ont montré que les deux huiles commerciales de nigelle ainsi présentent une activité variable sur les souches à Gram positif qui est *S. aureus*, dont la plus forte a été exercé sur les souches à gram négatif *E. coli* et *klepseilla pneumoniae*., Donc, nous avons distingué que les bactéries à Gram négatif se sont caractérisées par une insensibilité par rapport aux extraits testés

Le travail que nous avons entrepris a pour but : la valorisation et la contribution à une meilleure connaissance d'une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle la *Nigella sativa* ,et fournir des informations comparatives sur l'activité antibactérienne de deux sources de l'huiles commerciales , afin d'évaluer leur potentiels d'utilisation dans le domaine médical.

Conclusion et perspectives

Au vu des effets obtenus *in vitro*, les perspectives médicinales de l'huile de Nigelle sont donc très prometteuses mais les essais cliniques manquent. Cette étude pourrait être complétée par d'autres essais *in vivo* sur un modèle animal afin de développer des approches appropriées dans le but d'une éventuelle application chez l'homme.



**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

A

- ✚ AL-JASSIR S.M. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chemistry* 1992 : 45 239-42
- ✚ Andreas G. Heiss · Klaus Oegg., 2005. The oldest evidence of *Nigella damascea* L. (Ranunculaceae) and its possible introduction to central Europe
- ✚ Al-Jassir MS., 1992. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chem.*;45(4):239- 42.
- ✚ Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., Damanhour, A. Z., Anwar, F., 2013. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb, *Asian Pac J Trop Biomed.* 3(5): 337–352

B

- ✚ BABAYAN V.K. ; KOOTTUNGAL D. ; HALABY G.A. Proximate analysis, fatty acid and amino acid composition of *Nigella sativa* L. Seeds. *J. Food Sci.* 1978 : 43 1314-1315, 1319
- ✚ BASSIM ATTA M. Some characteristics of *Nigella* (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry* 2003 : 83 63-68
- ✚ Berche. P, Gaillard. JL, Simonet. M .1989. : Bactériologie les bactéries des infections
- ✚ Bousseboua, microbiologie générale , janvier 2002, Edition de l'université Montouricnstantine (Algerie), 1, 15, 17, 148, 160, 161, 162. pp au moyen d'huile essentielle. Thèse N°3311, Lausanne Suisse
- ✚ BENYOUCEF, A., 2019. Etude des propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques produisant des substances antibactériennes. Doctoral thesis, Ahmed Ben Bella university, Oran, 112 p.
- ✚ Baudry C. et Brezellec H., 2006. *Microbiologie : immunologie*. Wolters Kluwer. France. P. 36-38.
- ✚ BRUNETON J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.
- ✚ BURITS M. ; BUCAR F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res.* 2000 : 14 323-328
- ✚

C

- ✚ Carpenter, J. L. 1990, *Klebsiella* pulmonary infections: occurrence at one medical center and Review, *Rev. Infect. Dis.*, Vol.12 pp672-682.
- ✚ Cihan TOPARSLAN., 2012 À propos de *Nigella sativa* L

Références bibliographiques

- + Camille D.,1998. Microbiologie, 90 heures de travaux pratiques, enseignement.
- + Camille D., Bernard T., 2003 . Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux, réglementation-prélèvement-Analyse.

D

- + Delarras c ., 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou contrôle sanitaire. Technique et documentation.Lavoisier , Paris.
- + Das, K., Tiwari, R., Shrivastava, D., 2010. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. Journal of medicinal plants research 4, P:104-111.

E

- + Enwuru, N.V., S.O. Ogbonnia, F. Nkemhule, C.a. Enzuru and O. Tolani,.2008. Evaluation of antibacterial activity and acute toxicity of the *Stachytarphetaangustifolia* (Mill) Vahl. Afr. J. Biotechnol., 7:1740-1744.
- + El TahirK.E.H., and Bakheet D.M., 2007. The Black seed *Nigella sativa* linnaeus-amine for multi-cures: A plea for urgent clinical evaluation of its volatile oil.J.T.U.Med. Sci., 1: P1-19
- + EL-HADIYAH T.M. ; RAZA M. ; MOHAMMED O.Y. ; ABDALLAH A.A.Evaluation of *Nigella sativa* seed constituents for their in vivo toxicity in mice. Natural Product Science 2003 : 9 22-27
- + EL-KAMALI H.H. ; AHMED A.H. ; MOHAMMED A.S. ; YAHIA A.A.M. ; EL-TAYEB I.H. ; ALI A.A. Antibacterial properties of essential oils from *Nigella sativa* seeds, *Cymbopogon citratus* leaves And *Pulicaria undulate* aerial parts. Fitoterapia 1998 : 69 77-78



F

- + Ferron. A.1976: Bactériologie à l'usage des étudiants en médecine G ROQUES. 8^{ème} MASSON

G

- + Gachkar L , Davood Yadegari D, Bagher Rezaei M , Masood Taghizadeh M, Astaneh S A, Rasooli I., 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils.102(03).p 898-904..

H

Références bibliographiques

- ✚ Harzallah H.J., Noumi E., Bekir K., Bakhrouf A and Mahjoub T. (2012). Chemical composition, antibacterial and antifungal properties of Tunisian *Nigella sativa* fixed oil. African Journal of Microbiology Research Vol. 6(22) pp. 4675-4679.
- ✚ HAQ A. ; LOBO P. ; AL-TUFAIL M. ; RAMA N. ; AL-SEDAIRY S.T. Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange

Chromatography. Int.J.Immunopharmacol. 1995 : 21 283-295

- ✚ HOUGHTON P.J. ; ZARKA R. ; DE LAS HERAS B. ; HOULT J.R.S.

Fixed oil of *Nigella sativa* and derivated thymoquinone inhibit eicosanoïd generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. *Planta Med.* 1995 : 61 33-36 Tec&Doc – Lavoisier, Paris, 1999

J

- ✚ Joly Bernard., Alain Reynaud., 2003. Enterobacteries : Systématique et methods de diagnostic

k

- ✚ KUMARA S.S.M. ; HUAT B.T.K. Cytotoxic and immunopotentiating effects of ethanolic extract of *Nigella sativa* L. Seeds. *J. Ethnopharmacol.* 2000 7: 70 1-

L

- ✚ Lansing M., John P., Harley., 2003. Microbiologie 2ème edition français, 5ème edition américaine. P :28-31.

M

- ✚ Monteil. H, Avril. J .1992: Bactériologie chimique. ére Ed. MarKeting. Paris
- ✚ Mariam A., Abu-Al-Basal., 2009. In vitro and in vivo anti-microbial effects of *nigella sativa* linn. Seed extracts against clinical isolates from skin wound infection. *American Journal of Applied Sciences*, 6(8): P 1440-1447.
- ✚ Mehani, M., Segni, L., 2014. Effet antimicrobien des huiles essentielles de la plante *Eucalyptus camadulensis* sur certaines bactéries pathogènes. *Proteus, Annales des*

Références bibliographiques

Sciences et Technologie Vol. 6, N° 1, 10(11), 66.

- ✚ Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Pfaller, M. A., & Jorgensen, J. H., 2020. Medical Microbiology.

N

- ✚ Nergiz C, Ötleş S.,1993. Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. Food Chem.;48(3):259- 61. .

P

- ✚ Ponce, A., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT - Food Science and Technology, 36(7), 679–684.
- ✚ Pibiri M-C., 2005. Assainissement microbiologique de l'aire et des systèmes de ventilation Humaines. Edition Flammarion 1ère éd. Paris.
- ✚ Podschun, R. and U. Ullmann., 1998. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin. Microbiol. Rev., Vol. 11 pp 589-

R

- ✚ Randhawa M. A., Al-Akloby O.M., Al-jabre S.H.M., Al-qurashi A.M. and N.Akhtar., 2005. Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, inhibited *Fusarium solani*. Pak. J. Med. Res., 44: P1-3

S

- ✚ Salman MT, Khan Ra, Shukla I ., 2008. Antimicrobial activity of Black Cumin seeds (*Nigella sativa*) against multi-Drug resistant strains of Coagulase negative Staphylococci. Hippocratic J. Unani Med., 3: P 107-112.
- ✚ Schwalbe, R., Steele-Moore, L., Goodwin, A.C., 2007. Antimicrobial susceptibility testing protocols. Crc Press.



Annexe

Annexe

Appareillages	Verreries et autres	Réactifs et solutions	Milieux de cultures
-Bec Bunsen	-Becher	-Eau physiologie	-Muller – hinton
-Bain marine	-Tubes a essai stériles	-Eau de javel	-Héktoen
-Etuves	-Boite a pétrie	-Eau distillée	-Chapman
-Autoclave	-Pipette Pasteur	-Bouillon nutritif	
-Support (porte tube)	-Ecouvillons		
-Microscope Optique	-Lame		
	-Lamelle		
	-Seringue		
	-Papier aliminium		
	-Anse de platine		
	-Papier absorbant		