

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/FSNVST/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière :** Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

Mlle CHELLALI Ibtissem & Mlle BAGHDADI Houda

Thème

**Effet des extraits de quelques plantes médicinales sur les
bactéries pathogènes de lait.**

Soutenu le : 03 /07 /2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme. MOUDACHE Messaad</i>	<i>MCA.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme. DJENADI Katia</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mme. YALAOUI-GUELLAL Drifa</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mr. BERRAH Anis</i>	<i>Docteur</i>	<i>Institut Pasteur (Alger)</i>	<i>Co-promoteur</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

Avant tout nous remercions « Allah » le tout puissant qui nous à donner le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous remercions l'ensemble du jury, Mme MOUDACHE Messaad pour l'honneur qu'il nous fait en président ce jury et Mme DJENADI Katia pour avoir accepté l'évaluation de ce mémoire et d'en être examinatrice

Nous adressons notre plus vif remerciement à notre encadrante Mme. YALAOUI-GUELLAL Drifa qui nous à accorder l'honneur de diriger ce travail et de nous avoir fait bénéficier de ses précieux aide, ses connaissances dans le mémoire, ses encouragements, ses conseils et son bon honneur.

Nous tenons à adresser, notre respect et nos vifs remerciements à notre Co - promoteur Mr. BERRAH Anis et toutes l'équipe de l'Institut Pasteur d'Alger pour leur soutien tout au long de notre projet. Vos engagements et expertises sont inestimables pour la réussite de notre travail.

Nous remercions tous nos enseignants ainsi que le personnel de la faculté, essentiellement Mr. Maiz Yacine. pour leur patience, leurs efforts et leurs conseils pendant nos études.

A la fin nous remercions chaleureusement nos familles respectives et nos amis pour leur soutient et leurs encouragements.

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :

A ma très chère mère « Chaban Warda ». Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous. Merci pour tout l'amour et les sacrifices que tu as fait pour moi. Tu as toujours été une source d'inspiration pour moi. Ta force et ton dévouement m'ont aidée à traverser les moments difficiles tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Que ce travail, soit pour toi, un faible témoignage de ma Profonde affection et tendresse. Qu'ALLAH te protège et te donne la santé, le bonheur et longue vie.

A mon très cher père « Baghdadi Hocine ». Merci pour tout l'amour et le soutien que tu m'as apporté tout au long de mon parcours. Ton encouragement et ta confiance en moi m'ont aidée à surmonter les moments difficiles et à réussir. Que ce travail, soit pour toi, Qu'ALLAH le tout puissante te préserve, t'accorde Santé, bonheur et te protège de tout mal.

A mes chers frères et ma seule sœur. Merci pour votre soutien et votre amitié tout au long de mes études. Votre amour inconditionnelle été une source de motivation pour moi et qui mon inspirée à poursuivre mes rêves

Enfin à toutes les personnes qui comptent pour moi et qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer.

Houda

Dédicaces

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma famille pour leur amour et leur soutien inconditionnels tout au long de mes études. J'aimerais remercier mes parents Hacene CHELLALI et Delinda ALEM pour leur encouragement constant, leurs conseils sages et leur amour indéfectible. Leur soutien financier et émotionnel m'a permis de poursuivre mes rêves et de réaliser mes objectifs.

Je suis également reconnaissante envers mes frères Yacine et Youcef et mes sœurs Leila, Bouchra, Meriem, Feriel pour leur amour et leur soutien, et pour les nombreux moments de joie et de rire partagés ensemble. Je dédie également ce mémoire à mes amies, qui ont été une source de soutien et d'inspiration tout au long de mes études. Leurs encouragements, leurs conseils et leur amitié ont été inestimables pour moi.

Enfin, je tiens à remercier mes professeurs et mes mentors pour leur enseignement, leur inspiration et leur soutien. Leurs conseils et leur expertise m'ont aidé à développer mes compétences et à réaliser mes objectifs académiques et professionnels. Je suis honorée et reconnaissante d'avoir eu l'opportunité de travailler avec eux.

Ibtissem

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Partie I : Synthèse bibliographique

I Généralités sur le lait cru	3
I.1 Définition du lait cru.....	3
I.2 Composition du lait cru	3
I.3 Microbiologie du lait cru	4
I.3.1 Flore endogène.....	4
I.3.2 Flore de contamination	5
I.3.2.1 Flore mésophile aérobie totale	5
I.3.3 Flore d'altération.....	5
I.3.3.1 Flore thermorésistante	5
I.3.3.2 Les coliformes	6
I.3.3.3 Les psychrotrophes	6
I.3.3.4 Les champignons microscopiques	6
a. Les levures.....	6
b. Les moisissures	7
I.3.4 Les bactéries pathogènes.....	7
I.3.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
I.3.4.2 Les Entérobactéries	7
a. <i>Escherichia coli</i>	7
b. <i>Salmonella</i>	8
I.3.4.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	8
II Les plantes médicinales	9
II.1 Phytothérapie	9
II.2 Définition.....	9
II.3 Principe actif.....	9
II.4 Les métabolites primaires	9
II.4.1 Définition.....	9
II.4.2 Classification	9

II.5 Les métabolites secondaires	10
II.5.1 Définition.....	10
II.5.2 Classification	10
II.5.2.1 Les polyphénols	10
II.5.2.2 Les alcaloïdes	11
II.5.2.3 Les terpènes	11
II.5.2.4 Les saponosides	11
II.5.2.5 Les caroténoïdes	12
II.5.2.6 Les huiles essentielles.....	12

Partie II : Démarches expérimentales

III Matériel et méthodes	14
III.1 Objectif de l'étude.....	14
III.2 Matériel	14
III.2.1 Matériel végétal.....	14
III.2.2 Matériel biologique	14
III.2.3 Matériel non biologique	15
III.3 Méthodes	15
III.3.1 Extraction des biomolécules d'origine végétales	15
III.3.1.1 Préparation de la poudre.....	15
III.3.1.2 Extraction des biomolécules	15
III.3.1.3 Filtration.....	16
III.3.2 Isolement de bactéries pathogènes de lait cru	18
III.3.2.1 Echantillonnages	18
III.3.2.2 Etude microbiologique de lait cru de vache	18
III.3.3 Activité antibactérienne des biomolécules d'origine végétale	21
III.3.3.1 Repiquage des souches et préparation des inocula	21
III.3.3.2 Ensemencement et dépôt des disques	21
III.3.3.3 Détermination des concentrations minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) pour les extraits éthanoliques bruts.	22
a. Détermination de la CMI.....	22
b. Détermination de la CMB	23
c. Détermination de la nature de l'activité	23
IV Résultats et discussion	24
IV.1 Isolement et identification des germes de contamination	24

IV.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	24
IV.1.2 <i>Escherichia coli</i>	26
IV.1.3 <i>Salmonella</i>	27
IV.1.4 <i>Listeria monocytogenes</i>	27
IV.2 Rendement de l'extraction des extraits éthanoïques bruts	32
IV.3 L'activité antimicrobienne	34
IV.4 Détermination de la CMI et de la CMB	38
IV.5 Détermination de la nature de l'activité antibactérienne	41
Conclusion	43
Références bibliographiques	45

Annexes

Résumés

Liste des abréviations

ATB	Antibiotique.
BHIB	Bouillon Cœur Cervele.
BP	Baird Parker.
CMB	Concentration Minimale Bactéricide.
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice.
D/C	Double Concentration.
DO	Densité Optique.
H₂O	L'eau.
H₂O₂	Peroxyde D'hydrogène.
ISO	International For Standardisation Organisation.
MH	Muller Hinton.
O₂	Oxygène.
OCLA	Oxiod Chromogenic Agar <i>Listeria</i> .
ONPG	L'ortho-Nitro-Phényl-Galactoside.
SCN	<i>Staphylocoques</i> A Coagulase Négative
SCP	<i>Staphylocoques</i> A Coagulase Positive.
SFB	Bouillon De Cystine Sélénite.
TBX	Milieu Tryptone Bile X-Glucuronide
TSE	Tryptone Sel Eau.
UFC	Unité Formant Colonie.

Liste des figures

Figure 1: Les principales bactéries lactiques	4
Figure 2: Quelques bactéries pathogènes	5
Figure 3: Spores et filaments mycéliens de <i>Geotrichum candidum</i>	6
Figure 4: Tête conidienne d' <i>Aspergillus flavus</i>	7
Figure 5: Structure de quelques caroténoïdes	12
Figure 6: Les poudres des plantes utilisées.	15
Figure 7: Extraction par macération.....	16
Figure 8: Extraction par ultrason.....	16
Figure 9: Préparation des extraits.....	17
Figure 10: Conservation des extraits.....	17
Figure 11: Standardisation des souches.	21
Figure 12: Stérilisation des extraits des plantes à l'aide des disques filtrants a seringue.	22
Figure 13: Schéma de détermination de la CMI et la CMB.....	23
Figure 14: <i>Staphylococcus aureus</i> sur Baird Parker.	24
Figure 15: Résultat de test coagulase positif.....	25
Figure 16: <i>Escherichia coli</i> sur tryptone-bile-glucuronate	26
Figure 17: Nombre d' <i>E. Coli</i> confirmés dans les échantillons de lait cru de vache.	26
Figure 18: L'aspect du bouillon Fraser après incubation.....	27
Figure 19: Aspect de <i>L. monocytogenes</i>	28
Figure 20: Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> au Gram	28
Figure 21: Résultat de test catalase positif.....	29
Figure 22: Résultat de test oxydase.....	29
Figure 23: Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sur gélose mannitol mobilité à 25°C.....	30
Figure 24: Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sur gélose au sang frais	30
Figure 25: Résultats de la galerie Api <i>Listeria</i>	31
Figure 26: Résultats de la galerie Api <i>Listeria</i> sur le site apiweb.biomerieux.com.....	31
Figure 27: Nombre de <i>L. monocytogenes</i> confirmés dans les échantillons de lait cru	32
Figure 28: Concentrations d'extraits éthanoïques obtenus par macération et ultrasons.	33
Figure 29: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits éthanoïque (4 g).	35
Figure 30: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits éthanoïque (10 g).	36
Figure 31: Pourcentage d'inhibition des extraits éthanoïques de <i>Glycyrrhiza glabra</i>	39
Figure 32: Pourcentage d'inhibition des extraits éthanoïques de <i>Mentha spicata</i>	40

Liste des tableaux

Tableau I: Composition générale du lait de vache	3
Tableau II: Flore originelle du lait cru.	4
Tableau III: Les différents types des terpénoïdes.....	12
Tableau IV: Les bactéries utilisées et les références des souches	14
Tableau V: Résultats des tests biochimiques de <i>S. aureus</i>	25
Tableau VI: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) et pouvoir antibactérien des extraits bruts de <i>Glycyrrhiza glabra</i> et <i>Mentha spicata</i>	42

Introduction

L'Algérie est un pays où la tradition laitière occupe une place prépondérante. Le lait cru de vache et les produits laitiers jouent un rôle essentiel dans l'alimentation humaine, en raison de leur apport important en protéines d'origine animale. Cependant, le lait ne se limite pas à sa valeur nutritionnelle, il peut également contenir des bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp* et *Staphylococcus aureus*, susceptibles de provoquer des maladies chez les consommateurs (Ghazi et al., 2011).

Les plantes médicinales ont une longue histoire d'utilisation dans le traitement de diverses affections tant chez les êtres humains que chez les animaux. Les molécules bioactives présentes dans ces plantes offrent une alternative prometteuse pour lutter contre les agents pathogènes présents dans le lait cru de vache, en évitant les effets secondaires indésirables. Ces molécules bioactives sont des composés chimiques naturels dotés de propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires (Ghazghazia et al., 2013)

Les plantes médicinales contiennent une grande variété de biomolécules actives, telles que des terpènes, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des coumarines, des tanins, des saponines et des acides phénoliques. Des études ont été menées pour évaluer leur capacité à inhiber la croissance de bactéries pathogènes dans les aliments, y compris le lait cru de vache. Les extraits de plantes médicinales sont donc une alternative naturelle et efficace pour renforcer la sécurité alimentaire (Ait Chaouche, 2018). Aujourd'hui, il y a une tendance croissante à utiliser des traitements à base de plantes et de produits naturels contenant des molécules efficaces, sans effets secondaires indésirables. Les résultats de ces études sont encourageants et renforcent l'opinion des chercheurs qui soutiennent cette forme de thérapie (Mokhtari, 2017).

Dans notre étude, nous explorons l'effet des biomolécules actives des plantes médicinales sur les pathogènes présents dans le lait cru de vache en Algérie. En étudiant cette alternative, nous ouvrons de nouvelles perspectives pour la recherche future dans l'industrie laitière algérienne. Les résultats de notre étude pourraient également aider à identifier des plantes médicinales qui pourraient être utilisées pour extraire des biomolécules actives dans d'autres domaines de la recherche médicale. Enfin, notre étude pourrait ouvrir de nouvelles perspectives pour développer des traitements alternatifs pour lutter contre les pathogènes dans le lait cru de vache en Algérie.

Pour cette étude, nous allons utiliser des plantes médicinales locales qui ont été traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes. La stratégie de travail que nous allons entreprendre implique l'extraction des biomolécules actives des plantes médicinales, puis leur utilisation pour traiter les pathogènes dans le lait cru de vache.

Le premier chapitre se concentre sur l'analyse de la composition du lait cru de vache et des pathogènes qu'il peut contenir.

Le deuxième chapitre examine les propriétés médicinales des plantes et les biomolécules actives qu'elles renferment.

Le troisième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés pour l'extraction des biomolécules actives de différentes plantes médicinales, ainsi que l'évaluation de leur effet sur les pathogènes du lait cru de vache.

Le quatrième chapitre analyse en détail les résultats obtenus au cours de cette étude et une comparaison avec des travaux antérieurs a été réalisée.

Enfin, une conclusion est tirée de cette étude, mettant en évidence les implications pour la recherche future dans ce domaine suivi par une liste de références puis les annexes.

Partie I :
Synthèse bibliographique

Chapitre I

I Généralités sur le lait

I.1 Définition du lait

Le lait est un aliment produit par les glandes mammaires des mammifères femelles. Sa définition précise stipule qu'il est le produit de la traite intégrale et ininterrompue d'une femelle laitière en bonne santé, bien nourrie et non surmenée, excluant tout colostrum. Le lait cru fait référence au lait non traité, excepté la réfrigération immédiate après la traite à la ferme, sans avoir été chauffé à plus de 40°C, et il est conditionné sur place pour être livré quotidiennement aux points de vente (Noblet, 2012).

I.2 Composition du lait

Le lait est composé principalement d'eau, avec environ 88,6% de sa composition. Les glucides sont également présents, avec le lactose comme principal glucide, constituant environ 97% du lait. Les protéines représentent environ 95% de sa composition, avec les caséines comme principale catégorie de protéines présentes sous forme de micelles. Les lipides sont présents sous forme d'émulsion, principalement constitués de triglycérides. Les sels minéraux, sont présents en quantités variant de 0,60 à 0,90% après incinération (Tableau I).

Le lait contient également des enzymes, telles que les hydrolases, les déshydrogénases et les oxygénases, ainsi que des vitamines, réparties en vitamines hydrosolubles et liposolubles (Guétouache *et al.*, 2014)

Tableau I: Composition générale du lait de vache (Vignola, 2002).

Constituants majeurs	Quantités limites (%)	Quantités moyennes (%)
Eau	85,5-89,5	87,5
Matière grasse	2,4-5,5	3,7
Protéines	2,9-5,0	3,2
Glucides	3,6-5,5	4,6
Minéraux	0,7-0,9	0,8
Constituants mineurs : enzymes, vitamines, pigments, cellules diverses, gaz		

I.3 Microbiologie du lait cru

Le lait contient un large éventail de cellules, à la fois d'origine endogène comme les globules blancs, et d'origine exogène, incluant de nombreux microorganismes pathogènes et d'autres d'altération. Les micro-organismes présents dans le lait cru sont divers, comprenant des bactéries, des levures, des moisissures, des virus et différents protozoaires. Ces micro-organismes varient en termes de taille et de complexité (Laithier, 2011).

I.3.1 Flore endogène

La flore originelle de lait est composée de micro-organismes dès sa sortie du pis. Les genres dominants sont principalement des mésophiles, tels que les microcoques, les streptocoques lactiques et les lactobacilles. Ces microorganismes, dont la présence varie en fonction de l'alimentation, n'ont pas d'effet significatif sur la qualité et la production du lait (Benhedane et Amourache, 2012).

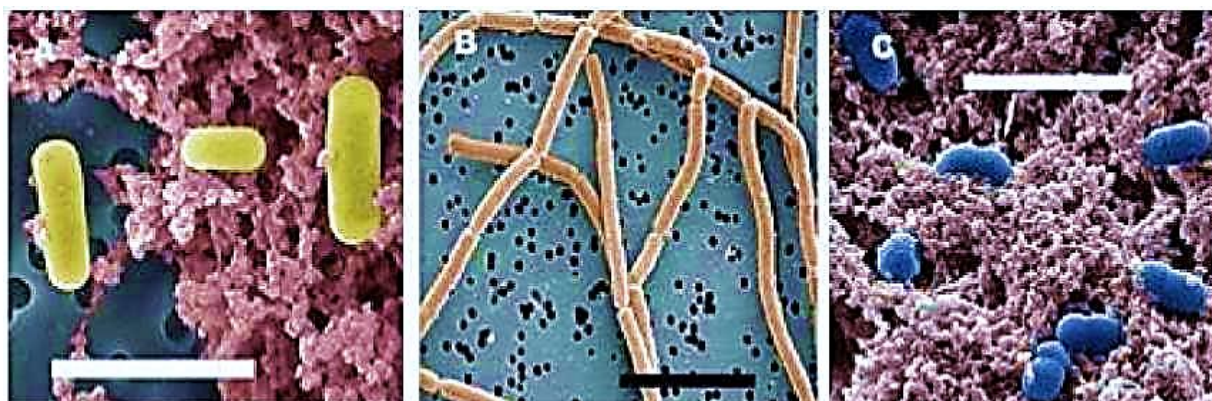


Figure 1: Les principales bactéries lactiques A : *Lactobacillus helveticus*, B : *Lactobacillus delbrueckii*, C : *Lactococcus lactis* (Prescott et al., 2010).

Le tableau II regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau II: Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus spp</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus ou Lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	<10

I.3.2 Flore de contamination

La flore de contamination désigne l'ensemble des micro-organismes qui sont introduits dans le lait depuis sa récolte jusqu'à sa consommation. Elle comprend une flore d'altération responsable de défauts sensoriels et d'une réduction de la durée de conservation des produits laitiers, ainsi qu'une flore pathogène pouvant causer des maladies.



Figure 2: Quelques bactéries pathogènes (Prescott *et al.*, 2010).

I.3.2.1 Flore mésophile aérobie totale

La flore mésophile aérobie totale est un indicateur clé de l'hygiène du lait cru. Elle permet de surveiller la présence de divers micro-organismes contaminants tout au long de la production et de la transformation du lait. Son nombre est utilisé pour évaluer la conformité aux normes sanitaires et prendre des mesures de sécurité appropriées pour assurer la qualité du lait (Zoghlami *et al.*, 2022).

I.3.3 Flore d'altération

I.3.3.1 Flore thermorésistante

Certaines bactéries présentes dans le lait sont capables de survivre aux traitements thermiques couramment utilisés pour la stérilisation et la conservation. Ces thermorésistantes peuvent provoquer la dégradation des protéines et la coagulation anormale du lait pasteurisé. Elles comprennent des genres tels que *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Clostridium* et *Bacillus*, notamment certaines souches de *Bacillus cereus* qui peuvent produire des entérotoxines résistantes à la pasteurisation (Afif *et al.*, 2008).

I.3.3.2 Les coliformes

Ils se divisent en deux groupes distincts selon leur origine (Jakob et al., 2009). D'une part, il y a les coliformes non fécaux qui proviennent de l'environnement global des vaches et peuvent être détectés dès 30°C. D'autre part, il y a les coliformes fécaux qui ont principalement une origine dans le tube digestif et qui sont plus résistants à la chaleur, étant détectés à 44°C. *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe.

I.3.3.3 I.3.3.3. Les psychrotrophes

Ils sont définis comme des micro-organismes qui ont la faculté de se développer à une température égale ou inférieure à 7°C, indépendamment de leur température optimale de croissance. Parmi les micro-organismes qui composent ce groupe, nous pouvons citer :

- Les genres à Gram négatifs : *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Serratia*...etc.
- Les Gram positifs : *Micrococcus*, *Corynebactérium*...etc. En général dans le lait, c'est le genre *Pseudomonas* qui domine (Poueme, 2006).

I.3.3.4 Les champignons microscopiques

a. Les levures

Elles sont définies comme des champignons unicellulaires ayant une forme ovale ou sphérique. Leur classification se base sur des caractéristiques morphologiques, de reproduction, ainsi que des propriétés physiologiques et biochimiques. Des exemples de levures sont *Geotrichum candidum* et *Debaryomyces hansenii*.

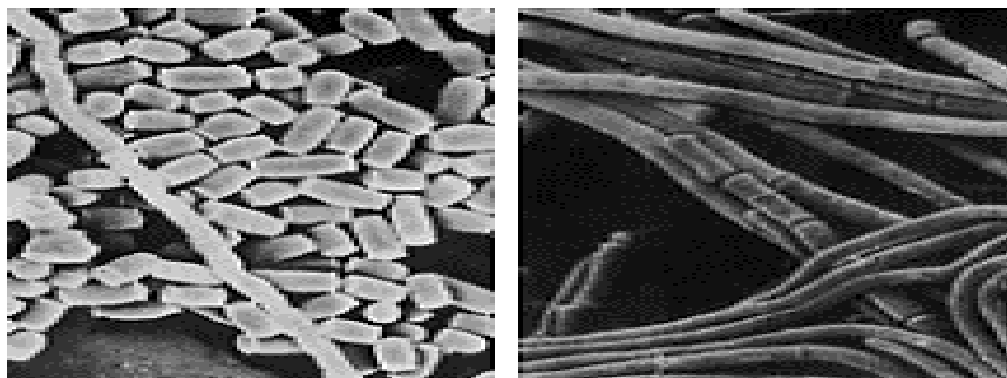


Figure 3: Spores et filaments mycéliens de *Geotrichum candidum* (Laithier, 2011).

b. Les moisissures

Ils sont des champignons filamenteux pluricellulaires. Leur identification repose principalement sur des caractéristiques macro- et microscopiques, bien que les techniques de biologie moléculaire remettent en question ces critères. Les moisissures se propagent par la dispersion de spores qui peuvent être présentes dans l'environnement (air, eau) et se retrouver dans le lait et les fromages (Laithier, 2011).

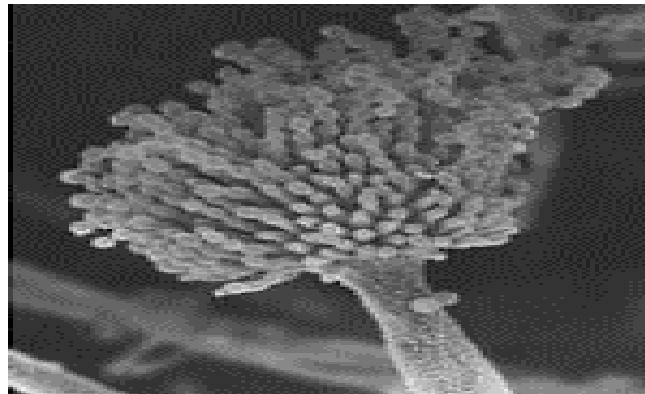


Figure 4: Tête conidienne d'*Aspergillus flavus* (Laithier, 2011).

I.3.4 Les bactéries pathogènes

I.3.4.1 Staphylococcus aureus

Les staphylocoques sont présents dans divers environnements, certains étant pathogènes tandis que d'autres sont inoffensifs. En ce qui concerne le *Staphylococcus aureus*, la norme pour le lait cru recommande l'absence de cette bactérie. Les infections mammaires causées par les staphylocoques sont la principale source de contamination du lait lors de sa production (Thieulon, 2005).

I.3.4.2 Les Entérobactéries

a. *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie intestinale à Gram négatif qui peut être mobile ou immobile. Elle a la capacité de fermenter le glucose et le lactose, produisant du gaz. Cette espèce bactérienne est couramment associée aux maladies humaines et fait partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif (Poueme, 2006).

b. Salmonella

La salmonellose est une maladie d'origine alimentaire fréquente chez les humains. Elle est causée par la consommation de lait contaminé par des *salmonelles*, qui sont des entérobactéries qui fermentent le glucose en produisant du gaz, mais elles ne fermentent pas le lactose (Poueme, 2006).

I.3.4.3 Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes est une bactérie à Gram positive largement présente dans l'environnement. Elle a la capacité de se développer à des températures relativement basses et peut causer une infection alimentaire. La consommation de lait cru ou de fromages élaborés à partir de laits contaminés est souvent la principale source de cette infection (Tourdjman et al., 2014).

Chapitre II

II Les plantes médicinales

II.1 Phytothérapie

Elle est une approche médicale utilisant les plantes et leurs préparations pour prévenir et traiter divers troubles. Elle est souvent choisie lorsque d'autres options médicales n'ont pas été efficaces. Cependant, la standardisation de cette pratique reste un défi, limitant son adoption dans la médecine conventionnelle (Chabrier, 2010).

II.2 Définition

Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps pour leurs propriétés thérapeutiques, grâce aux composés chimiques qu'elles contiennent. À des doses appropriées, elles sont efficaces et ne présentent pas d'effets indésirables. Elles jouent un rôle essentiel dans la prévention, le traitement et le soulagement de diverses affections (Merad et Mahiout, 2019).

II.3 Principe actif

Ils sont des molécules thérapeutiques présentes dans les drogues végétales ou leurs préparations. Ces substances, contenues dans différentes parties des plantes, elles sont classées comme des composés primaires et secondaires. Ces derniers sont utilisés par les plantes pour se protéger. Elles sont souvent exploitées en médecine pour leurs propriétés thérapeutiques (Vercauteren, 2006).

II.4 Les métabolites primaires

II.4.1 Définition

Le métabolisme primaire des plantes supérieures concerne les voies de synthèse essentielles aux processus de base. Il englobe la production de composés constitutifs de la paroi cellulaire, de protéines structurales et fonctionnelles, ainsi que de sucres et de lipides (Sauvion, 2013).

II.4.2 Classification

Les métabolites primaires des plantes supérieures se divisent en plusieurs catégories à savoir, les glucides, qui sont les biomolécules les plus abondantes qui jouent un rôle essentiel

dans l'alimentation ; les lipides, sont des composés variés impliqués dans la structure cellulaire et la réserve d'énergie ; les acides aminés, constituants des protéines et précurseurs de divers métabolites secondaires ; et enfin les protéines, des biopolymères essentiels ayant des structures globulaires ou fibreuses. Ces métabolites primaires sont impliqués dans de nombreux processus vitaux des plantes (Jean, 2009)

II.5 Les métabolites secondaires

II.5.1 Définition

Les métabolites secondaires sont des substances synthétisées naturellement par les plantes, ils ne sont pas essentiels à leur croissance mais ils remplissent des fonctions importantes pour leur survie. Ils se caractérisent par une grande variété structurale, avec plus de 200 000 structures différentes identifiées, bien que leur production soit généralement limitée (Hartmann, 2007).

II.5.2 Classification

II.5.2.1 Les polyphénols

Les plantes produisent de nombreux métabolites secondaires, dont les composés phénoliques. Ces substances, caractérisées par la présence d'un noyau benzénique lié à des groupes hydroxyles, ils sont très divers et ils ont des applications en pharmacologie et en agroalimentaire (Macheix *et al.*, 2005).

a. Acide phénolique

Les acides phénoliques sont des composés organiques avec une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. On les divise en acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques. Ils ont des propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (Balasundram *et al.*, 2006).

b. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments présents dans les plantes, largement diversifiés et associés à des sucres. Ils offrent une large gamme de bienfaits médicaux tels que leurs action antioxydant, leurs soutien à la circulation sanguine, leurs effet anti-inflammatoire et antiviral, ainsi que leurs protection du foie (Birt et Jeffery, 2013).

c. Les coumarines

Les coumarines sont un groupe de composés présents dans de nombreuses plantes. Elles possèdent de nombreuses activités biologiques bénéfiques, notamment cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes et vasodilatatrices (Jean, 2009).

d. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols à haut poids moléculaire qui ont la capacité de précipiter les protéines. Ils sont largement utilisés depuis l'Antiquité. Ils ont des propriétés astringentes, arrêtent les hémorragies et combattent les infections. Ils sont utilisés pour traiter divers problèmes, tels que les veines variqueuses, la diarrhée et les lésions cutanées (Sauvion, 2013).

II.5.2.2 Les alcaloïdes

Ils sont des métabolites végétaux aux propriétés pharmacologiques. Ils dérivent des acides aminés et ils contiennent de l'azote. Certains sont utilisés en médecine, comme ceux de la pervenche contre le cancer. Ils agissent également comme défenseurs naturels dans les plantes (Yinyang *et al.*, 2014).

II.5.2.3 Les terpènes

Ils sont une vaste famille de composés chimiques dérivés de l'isoprène. Ils sont présents dans de nombreux organismes et jouent un rôle essentiel dans les processus biologiques (Tableau III). Certains terpènes sont simples, tandis que d'autres sont plus complexes. Ils contribuent aux arômes et aux parfums des plantes (Berger, 2007).

II.5.2.4 Les saponosides

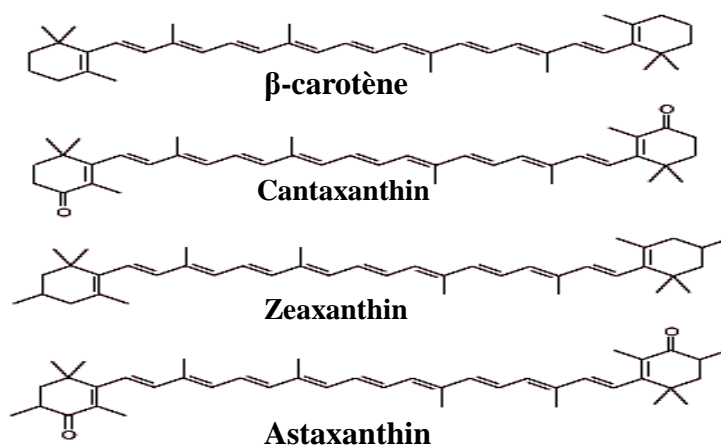
Ils sont des métabolites secondaires présents dans de nombreuses plantes. Elles produisent de la mousse au contact de l'eau. Ils se divisent en deux groupes : les stéroïdiennes et les triterpénoïdes. Les saponines ont des propriétés défensives et des effets bénéfiques pour la santé humaine, mais peuvent être toxiques pour les animaux (Böttger et Melzig, 2011).

Tableau III: Les différents types des terpénoïdes (Berger, 2007).

Nombre de carbone	Types du terpénoïdes
5	Hémiterpènes
10	Monoterpènes
15	Sesquiterpènes
20	Diterpènes
30	Triterpènes
40	Tétraterpènes
>40	Polyterpènes

II.5.2.5 Les caroténoïdes

Ils sont des pigments liposolubles qui confèrent aux plantes et aux micro-organismes des couleurs vives allant du jaune au rouge. Il existe plus de 700 caroténoïdes identifiés, regroupés en carotènes non oxygénés (comme le bêta-carotène) et xanthophylles oxygénés (comme la lutéine). Ils jouent un rôle essentiel dans la protection contre le stress oxydatif. Ils peuvent avoir des effets bénéfiques pour la santé humaine en tant qu'antioxydants et précurseurs de la vitamine A (Zielińska *et al.*, 2017).

**Figure 5:** Structure de quelques caroténoïdes (Jomova et Valko, 2013).

II.5.2.6 Les huiles essentielles

Ils sont des produits essentiels issus du métabolisme des plantes aromatiques. Elles contiennent principalement des terpénoïdes tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes et

les diterpènes. Ces huiles sont concentrées, volatiles, de couleur limpide et ont des odeurs fortes. Elles sont stockées dans les cellules sécrétrices des différentes parties de la plante. Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés bénéfiques, telles que leur activité antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, antiseptique, analgésique et immunostimulante (Bouyahya *et al.*, 2018).

Partie II :
Démarches expérimentales

Chapitre III

III Matériel et méthodes

III.1 Objectif de l'étude

Nous menons une étude de février à mai 2023 pour évaluer l'efficacité de biomolécules végétales provenant de certaines plantes médicinales sur des bactéries pathogènes isolées à partir de lait cru de vache. Cette étude est divisée en deux parties : la première consiste en l'extraction des biomolécules actives à partir des plantes médicinales dans le laboratoire de notre université Akli Mohand Oulhadj Bouira, tandis que la seconde partie consiste en l'isolement des bactéries pathogènes du lait cru de vache et l'étude de leur comportement en présence de ces biomolécules dans le laboratoire de bactériologie des eaux et des aliments de l'Institut Pasteur d'Algérie à Delly Brahim.

III.2 Matériel

III.2.1 Matériel végétal

Nous avons acheté les échantillons de six plantes médicinales à savoir *Chenopodium quinoa* (Quinoa), *Glycyrrhiza glabra* (Réglisse glabre), *Curcuma longa* (Curcume), *Mentha spicata* (Menthe), *Artemisia herba-alba* (Chih) et *Linum usitatissimum* (Lin)) sur le marché local de la wilaya de Bouira et les avons préparées en poudre.

III.2.2 Matériel biologique

Le lait cru de vache de la région de Bouira a été utilisé pour cette étude pour isoler des souches bactériennes, également des souches de référence fournies par le laboratoire de bactériologie des eaux et des aliments de l'Institut Pasteur d'Algérie de Delly Brahim ont été utilisées pour l'activité antibactérienne des extraits de plantes. Les souches bactériennes utilisées sont illustrées dans le tableau IV.

Tableau IV: Les bactéries utilisées et les références des souches

Souches bactériennes de lait cru de vache	Souches de références	Gram
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	Positif
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC7644	Positif

III.2.3 Matériel non biologique

Tous les équipements, la verrerie, les appareils ainsi que les milieux de cultures utilisés sont représentés en annexe n°1.

III.3 Méthodes

III.3.1 Extraction des biomolécules d'origine végétales

III.3.1.1 Préparation de la poudre

Les graines de Quinoa et du Lin, les feuilles de Chih et de Menthe et les racines de Réglisse glabre et de Curcuma ont été broyées et tamisées pour avoir une poudre fine et homogène ($< 250\mu\text{m}$). Les poudres obtenues (Figure 06) ont été stockées dans des récipients en verre et conservées dans un endroit sec et à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure 6: Les poudres des plantes utilisées, *a* : *Mentha spicata*, *b* : *Chenopodium quinoa*, *c* : *Linum usitatissimum*, *d* : *Glycyrrhiza glabra*, *e* : *Artemisia herba-alba*, *f* : *Curcuma longa*.

III.3.1.2 Extraction des biomolécules

L'extraction des biomolécules à partir des poudres obtenues a été réalisée dans le solvant, en utilisant deux méthodes différentes : l'extraction par macération et l'extraction par ultrason.

a. Extraction par macération

Nous avons mélangé 4 grammes de chaque poudre avec 80 ml d'éthanol à 70% pour la première extraction et 10 grammes de chaque poudre avec 50 ml d'éthanol à 70% pour la

deuxième extraction. Ensuite, les flacons (Figure 07) ont été placés sur une plaque Agitatrice, à température ambiante et dans l'obscurité pendant 3 heures (Koffi *et al.*, 2021).



Figure 7: Extraction par macération (*Originale*).

b. Extraction par ultrason

Nous avons mélangé 4 grammes de chaque poudre avec 80 ml d'éthanol à 70% pour la première extraction et 10 grammes de chaque poudre avec 50 ml d'éthanol à 70% pour la deuxième extraction. Ensuite les flacons ont été placés dans l'appareil ultrason qui fonctionne à une fréquence de 40 Htz et une puissance maximale de 120W (Figure 08) pendant 2 heures, à une température variante entre 30°C et 40°C (Bourgou *et al.*, 2016).



Figure 8: Extraction par ultrason (*Originale*)

III.3.1.3 Filtration

Après les périodes d'extraction (par macération ou par ultrason), nous avons filtré les échantillons à l'aide de papier filtre pour éliminer les particules hétérogènes du mélange (voir Figure 09a). Ensuite, nous avons séché les filtrats récupérés dans une étuve à $45 \pm 3^\circ\text{C}$ pendant

72 heures (voir Figure 09b) afin de récupérer l'extrait sec et d'éliminer le solvant (Koffi *et al.*, 2021).



Figure 9: Préparation des extraits, *a. filtration des extraits, b. séchage des extraits à sec (Originale).*

Par la suite les extraits secs ont été récupérés par reconstitution dans le même solvant d'extraction puis conservés dans des tubes à essai stériles en verre à 4°C, (Figure 10), à l'abri de l'humidité et de la lumière, jusqu'à leur utilisation.



Figure 10: Conservation des extraits (*Originale*).

Le rendement de l'extrait sec a été calculé par cette formule pour déterminer la concentration de chaque extrait : $C = (m_f - m_0) / v$

Où C, est la concentration de l'extrait, m_f est la masse de la boîte après séchage, m_0 est la masse de la boîte vide, V est le volume de solvant de reconstitution.

III.3.2 Isolement de bactéries pathogènes de lait cru

III.3.2.1 Echantillonnages

Vingt échantillons de lait cru de vaches saines ont été collectés à partir de différents élevages répartis dans la Wilaya de Bouira. Notons que la traite s'est déroulée dans des très bonnes conditions hygiéniques. Afin de réduire tout risque de contamination (Afif *et al.*, 2008).

Les 20 échantillons obtenus (de 250 ml) ont été collectés le matin manuellement dans des bouteilles stériles et bien fermés puis, ils ont été placés dans une glacière munie d'accumulateurs de glace et ont été acheminés au laboratoire afin de les analyser.

III.3.2.2 Etude microbiologique de lait cru de vache

Pour la recherche de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (*E. coli*) et *Salmonella*, la première étape consiste à préparer la solution mère.

A. Préparation de la solution mère

Pour chaque échantillon de lait cru, nous avons introduit 25 ml de lait cru de vache dans un flacon de bouillon TSE (Tryptone Sel Eau), sa composition dans l'annexe n°2, et l'avons laissé pendant 10-15 minutes dans l'étuve à 37°C (Coulibaly *et al.*, 2015).

B. La recherche de *Staphylococcus aureus*

Un volume de 0,1 ml de solution mère a été étalé à l'aide d'une pipette râteau à la surface du milieu Baird Parker additionnée de jaune d'œuf et de téllurite de potassium coulé préalablement dans une boîte de Pétri. L'incubation a été faite à 37 °C pendant 24h / 48h (Hamiroune *et al.*, 2016).

Des tests biochimiques ont été effectués pour confirmer *S. aureus* en utilisant le test catalase et le test coagulase. la souche *S. aureus* ATCC 25923 est utilisé comme témoin positif pour ces tests biochimiques.

a. Test catalase

Le test a été réalisé en déposant une colonie provenant d'une boîte de Baird Parker contenant une souche suspecte dans une goutte d'eau oxygénée (Reiner, 2010).

b. Test coagulase

Le test a été réalisé en mélangeant 0,5 ml d'une culture de *S. aureus* sur le bouillon cœur cervelle (BHIB) avec 0,5 ml de plasma de lapin. Un témoin positif a été réalisé en utilisant la souche de référence *S. aureus* ATCC 25923. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 heures (Sperber et Tatini, 1975).

c. Recherche d'*Escherichia coli*

Un volume de 0,1 ml de solution mère a été étalé à la surface du milieu de culture sélectif TBX (milieu tryptone bile X-glucuronide), composition en annexe n°2, à l'aide d'une pipette râteau. Ensuite, le milieu a été incubé à 44°C pendant 24 heures (Yörük, 2018).

d. Recherche de *Salmonella*

La recherche de *Salmonella* comprend trois étapes : pré-enrichissement, enrichissement et isolement.

Pour le pré-enrichissement, la solution mère a été incubée à 37°C pendant 24 heures. Pour l'enrichissement, le bouillon de cystine sélénite (SFB) a été utilisé comme milieu d'enrichissement sélectif pour *Salmonella*. Les cultures de pré-enrichissement ont été mises en suspension dans 10 ml de bouillon SFB à double concentration avec 2 disques SFB, puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

Pour l'isolement, la gélose d'Hektoen a été utilisée comme milieu (annexe n°2). Une goutte de la culture d'enrichissement a été isolée à la surface de la gélose à l'aide d'une pipette pasteur, puis la boîte a été incubée à 37°C pendant 24 heures (Afif et al., 2008).

e. Recherche de *Listeria monocytogenes*

La recherche de *Listeria monocytogenes*, nécessite plusieurs étapes selon la norme ISO 11290-1 :

Enrichissement primaire : Une prise d'essai de 25 ml de lait cru de vache a été ajoutée à 225 ml de bouillon Fraser demi utilisé comme diluant additionné de supplément Fraser demi, puis incubée à 30°C pendant 18/24 heures.

Enrichissement secondaire : un volume de 0,1 ml de bouillon d'enrichissement primaire a été transféré dans 10 ml de bouillon Fraser complet (annexe n°2) en tubes, puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

Isolement : un volume de 0,1 ml de bouillon d'enrichissement primaire et secondaire a été ensemencé en surface à l'aide d'une pipette râteau sur le milieu de culture chromogène OCLA et OXFORD (annexe n°2), puis incubé à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies caractéristiques obtenues sur gélose OCLA et OXFORD seront identifiées biochimiquement en utilisant plusieurs tests, tels que la coloration de Gram, le test catalase, le test oxydase, la mobilité, l'hémolyse de type β sur gélose Colombia au sang frais et une galerie biochimique miniaturisée de type API-*Listeria* (Gasanov et al., 2005).

Tests d'identification de *Listeria monocytogenes*

Coloration de Gram : Elle implique l'utilisation de différentes étapes, comme la coloration au violet de gentiane, la fixation au Lugol, un bain d'alcool et la coloration à la safranine. L'observation microscopique se fait à un grossissement de X100 avec immersion dans l'huile et une bonne luminosité (annexe n°3) (Thairu et al., 2014).

Test Catalase : Pour vérifier la présence de la catalase, une goutte de peroxyde d'hydrogène est déposée sur la colonie bactérienne dans une boîte de Pétri (Reiner, 2010).

Le test oxydase : on a pris une colonie à l'aide d'une anse de platine et la déposer sur la plaque de test d'oxydase puis on a observé la couleur de la réaction (Hayette et al., 2010).

Le test mobilité : on a ensemencé deux tubes de mannitol mobilité par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur jusqu'au fond des tubes, par la suite on a incubé le premier tube à 37°C/24h et le deuxième à 25°C/24h (Bankole et al., 2013).

Test d'hémolyse : on a ensemencé une colonie qui a été cultivée sur un milieu GN sur gélose au sang de cheval et incubée à 37°C pendant 24 heures (Beneddouché et Lebres, 2003).

Galerie Api Listeria : Une suspension bactérienne a été inoculée dans les tubes et les cupules de la galerie, puis incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures dans des conditions aérobies. Pour différencier *L. monocytogenes* de *L. innocua*, le réactif ZYM B a été ajouté au test DIM et laisser agir pendant quelques secondes. Les résultats ont été interprétés en se référant à un tableau de Lecture, et l'identification des souches ont été réalisée en utilisant un profil numérique disponible sur le site apiweb (Avoyne et al., 1996).

III.3.3 Activité antibactérienne des biomolécules d'origine végétale

La méthode des disques de diffusion sur gélose Mueller Hinton a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne par écouvillonnage.

III.3.3.1 Repiquage des souches et préparation des inocula

Les différentes souches bactériennes ont été revivifiées dans un bouillon nutritif BHIB (bouillon cœur-cerveille) à 37°C pendant 24 heures. Ensuite, elles ont été repiquées en utilisant la méthode des stries avec une anse de platine dans leur milieu de cultures sélectives et incubées à 37°C pendant 24 heures pour obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum.

Des suspensions ont été préparées pour chaque espèce à partir des boîtes contenant les germes pathogènes. Une ou plusieurs colonies bien isolées ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et déchargées dans un tube contenant de l'eau physiologique stérilisée. Le mélange a été agité vigoureusement sur un mélangeur à vortex immédiatement avant l'emploi pour ajuster la turbidité à 0,5 McFarland, ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/mL (Figure 11) (Sanogo *et al.*, 2016).



Figure 11: Standardisation des souches.

III.3.3.2 Ensemencement et dépôt des disques

Après avoir trempé un écouvillon de coton stérile dans la suspension, on l'a essoré à l'intérieur du tube. Ensuite, on a frotté l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée à trois reprises pour former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. L'ensemencement s'est terminé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Les extraits de plantes ont été stérilisés en utilisant des seringues équipées de disques filtrants de 0,20 μm de diamètre (Figure 12).

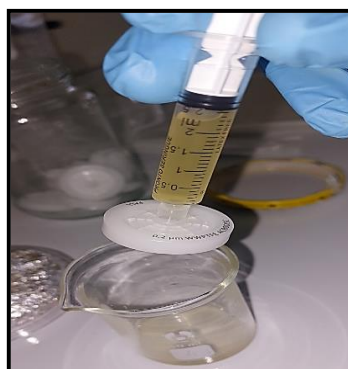


Figure 12: Stérilisation des extraits des plantes à l'aide des disques filtrants a seringue.

Les disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre, chargés de 10 μl des extraits des plantes stérilisés. Les disques des contrôles négatifs (imprégnés d'éthanol à 70°) et des contrôles positifs (antibiotique de référence gentamicine 15 μg /disque pour *Staphylococcus aureus*, imipénème 15 μg /disque imipénème pour *Escherichia coli*, amoxicilline 20 μg /disque pour *Listeria monocytogenes*) ont été placés à la surface de ces boîtes. Enfin, les boîtes ont été conservées à 4°C pendant 2 heures puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, le diamètre de la zone d'inhibition en mm a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse. Les analyses de l'activité antibactérienne sont effectuées en deux répétitions.

III.3.3.3 Détermination des concentrations minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) pour les extraits éthanoïques bruts.

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est définie comme la plus petite dilution dans laquelle aucune croissance macroscopique n'est observée. La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en extrait brut capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial, soit moins de 0,01 % de survivants (Falleh et al., 2008).

a. Détermination de la CMI

La technique de macro dilution en milieu liquide a été utilisée pour déterminer la CMI. Une série de dilutions a été préparée, allant de 1/2 jusqu'à la dilution 1/10 pour les extraits bruts et réparti un volume constant (1,8 ml) du bouillon nutritif (MH) et un volume de 100 μl

de chaque dilution dans une autre série de tubes. 100µl de l'inoculum bactérien, à partir d'une culture pure de 18 à 24 heures dont la densité bactérienne est équivalente au standard McFarland 0,5 (~10⁸ UFC/ml), ont été ajoutés dans chaque tubes, un tube sans extrait a été utilisé comme témoin. Après la mesure de turbidité de chaque tube, ces derniers ont été incubés à 37°C pendant 24 heures.

b. Détermination de la CMB

Pour la CMB, elle est déterminée en ensemençant des prélèvements dans chacun des tubes limpides en surface « mouvement en effectuant un mouvement en 8 sur gélose nutritive, les boîtes ainsi ensemençées, sont incubées à 37°C pendant 24 heures, et la CMB correspond à la plus petite concentration qui ne donne aucune croissance bactérienne (Bachiri *et al.*, 2016).

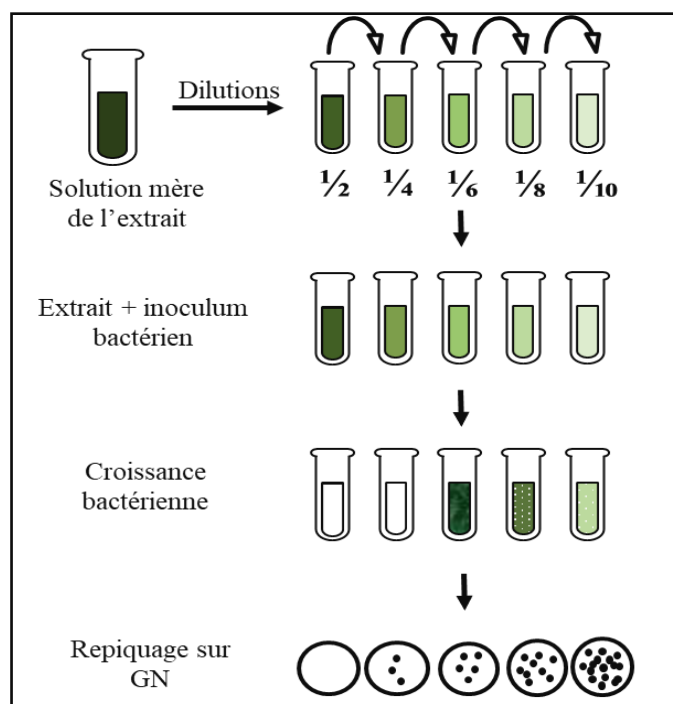


Figure 13: Schéma de détermination de la CMI et la CMB.

c. Détermination de la nature de l'activité

Le rapport CMB/CMI a permis de préciser la modalité d'action de la substance. L'extrait est bactéricide quand sa CMB est égale à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4. Il est bactériostatique lorsque sa CMB est supérieure à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est plus élevé que 4. Lorsque ce rapport est égal à 32, la souche est dite tolérante (Sanogo *et al.*, 2016).

Chapitre IV

IV Résultats et discussion

IV.1 Isolement et identification des germes de contamination

IV.1.1 *Staphylococcus aureus*

Sur le nombre total de nos prélèvements (20 échantillons), 15 souches caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été isolées sur la gélose sélective Baird-Parker et les tests biochimiques ont pu confirmer 8 souches de *S. aureus*. Après l'incubation, nous avons observés des colonies de *S. aureus* qui étaient petites, bombées, rondes, lisses et noirâtres avec un halo clair autour (Figure 14).

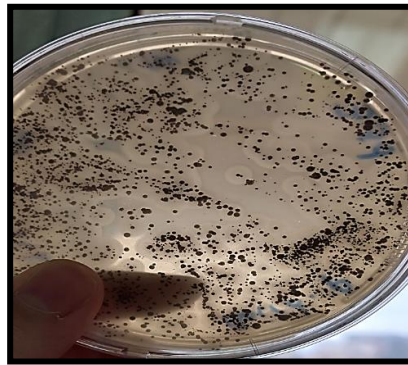


Figure 14: *Staphylococcus aureus* sur Baird Parker (Originale).

Ces colonies ont fait l'objet d'une purification et d'une identification biochimique basé sur deux tests biochimiques : test catalase et le test coagulase.

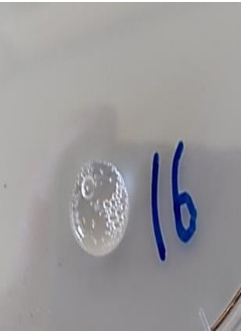

➤ *Test catalase*

Le test a indiqué que la plupart des échantillons étaient catalase positifs (tableau V), ce qui signifie qu'ils ont produit des bulles de gaz lors de la dégradation de l'eau oxygénée en eau et en oxygène. Les échantillons 3 et 14 ont cependant été testés négatifs pour la catalase.

➤ *Test coagulase*

En observant le tube contenant les souches à identifier (tableau V), un caillot a été formé au fond des tubes. Cette observation suggère la présence de la coagulase dans ces souches, ce qui signifie qu'elles sont positives pour la coagulase.

Tableau V: Résultats des tests biochimiques de *S. aureus* (Originale).

Test	Résultat	
Catalase	Positif	
Coagulase	Positif	

D'après ces analyses, 8 souches ont été identifiées comme *Staphylococcus aureus* dans le lait de vache, ce qui représente un taux de 53,33% par rapport à leur aspect morphologique (colonies noirâtres avec un halo clair autour dans 15 boîtes de pétrie). Ces souches représentent également 40% de l'ensemble de 20 échantillons (Figure 15).

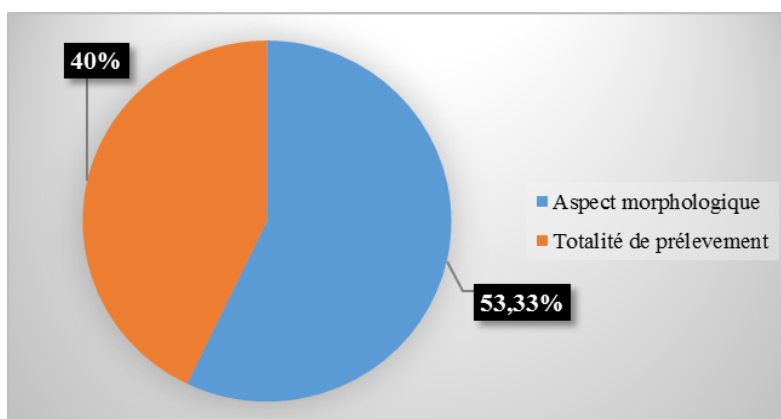


Figure 15: Résultat de test coagulase positif (Originale).

La présence de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru de vache peut être due à une infection de la mamelle de la vache, appelée mammite. Les risques pour la santé publique

associés à la consommation de lait contaminé par cette bactérie limitent la quantité de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru à 10^3 UFC/ml selon le Journal Officiel Algérien N°35.

IV.1.2 *Escherichia coli*

Après la période d'incubation, seules les boîtes correspondantes aux échantillons 6 et 10 (Figure 16) ont montré des colonies caractéristiques d'*Escherichia coli*, qui avaient une couleur bleu ou bleu-vert.

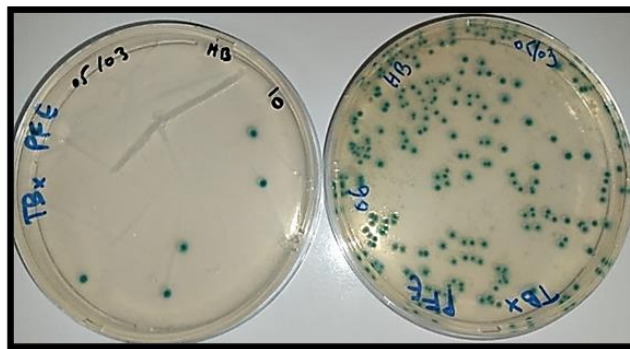


Figure 16: *Escherichia coli* sur tryptone-bile-glucuronate (Originale).

Nous avons trouvé deux souches d'*E. Coli* ce qui représente un taux de 12.5% sur la totalité des souches isolées par rapport à leur aspect morphologique (colonies bleues à bleues vertes dans 16 boites de pétrie) et de 10 % par rapport à la totalité des prélèvements examinés, 20 échantillons (Figure 17).

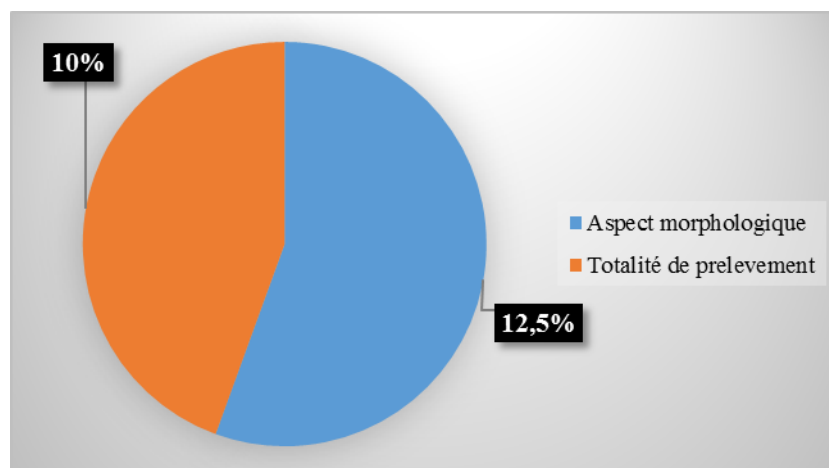


Figure 17: Nombre d'*E. Coli* confirmés dans les échantillons de lait cru de vache.

Ces résultats suggèrent une contamination par *E. coli* dans le lait, ce qui peut être dû à une mauvaise maîtrise d'hygiène lors de la traite, du stockage ou du transport du lait et/ou à une mauvaise manipulation.

IV.1.3 *Salmonella*

Après l'incubation, tous les échantillons analysés étaient négatifs pour *Salmonella*, car aucune colonie caractéristique n'a été observée. Les colonies de *Salmonella* sur milieu Hektoen sont vertes avec un centre noir, indiquant qu'elles ne fermentent pas les sucres inclus dans ce milieu.

En général l'isolement des salmonelles est difficile à mettre en évidence. Le lait cru peut être exempt de *Salmonella* si les vaches sont vaccinées, si la traite est effectuée dans des conditions d'hygiène rigoureuses et si le stockage et la manipulation du lait sont appropriés.

IV.1.4 *Listeria monocytogenes*

L'identification de *Listeria monocytogenes* a été faite suivant les caractères cultureux, morphologiques et biochimiques décrites dans les modes opératoires précédents, les résultats obtenus ont montré qu'après incubation, enrichissement primaire et secondaire, certains échantillons ont montré un noircissement du milieu, qui est dû à l'hydrolyse de l'esculine en esculétine, indiquant ainsi la présomption de la présence de *Listeria monocytogenes*. Pour confirmer cette présence, nous avons procédé à un isolement sur les deux milieux sélectifs OCLA et OXFORD.



Figure 18: L'aspect du bouillon Fraser après incubation. *A* : Résultat de l'enrichissement primaire, *B* : Résultat de l'enrichissement secondaire (Originale).

a. *Aspect morphologique sur la gélose OXFORD* : Un noircissement de la gélose a été observé dû à l'hydrolyse de l'esculine et la croissance de petites colonies vertes olive avec un centre noir en creux, entourées de zones noires après 24 heures d'incubation. Après 48 heures, les colonies étaient incrustées dans la gélose et présentaient une dépression centrale (Figure B19).

b. *Aspect morphologique sur gélose OCLA* : Les colonies caractéristiques de *Listeria monocytogenes* apparaissaient bleues à bleues vertes, bien arrondies et convexes, avec des bords réguliers et étaient entourées d'un halo opaque (Figure A19).

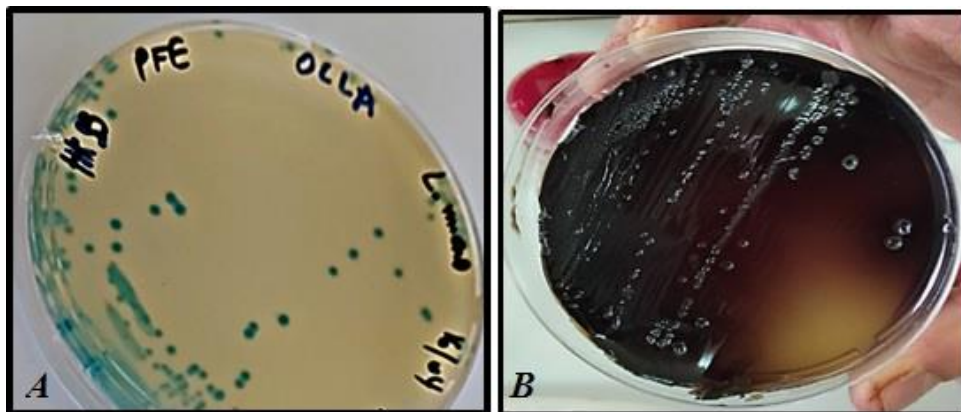


Figure 19: Aspect de *L. monocytogenes*. A : sur gélose OCLA et B : sur OXFORD (Originale).

Au microscope optique, *L. monocytogenes* a été observé comme un petit bacille Gram positif, droit aux extrémités arrondies, isolé en paires, formant des angles en V, en courtes chaînettes ou en palissades (Figure 20)



Figure 20: Aspect de *Listeria monocytogenes* au Gram, vue sous microscope optique Gr x100 (Originale).

L'identification biochimique de l'espèce *Listeria monocytogenes* ont montré les résultats suivants :

a. Test Catalase

De tous les échantillons analysés, seul l'échantillon n°9 a montré la présence de l'enzyme catalase, indiquée par la formation de bulles de gaz (Figure 21).

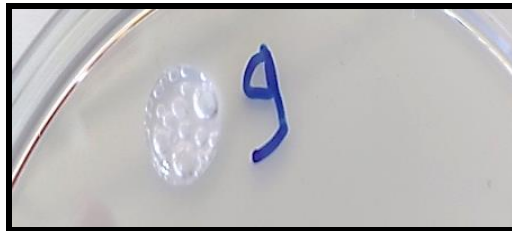


Figure 21: Résultat de test catalase positif (Originale).

b. Test oxydase

Le test oxydase effectué sur la souche de *Listeria monocytogenes* (échantillon n°9) a donné un résultat négatif, indiqué par l'absence de coloration violette, ce qui est dû à l'absence de l'enzyme cytochrome oxydase (Figure 22).



Figure 22: Résultat de test oxydase (+ : témoin d'oxydase positif, - : *Listeria monocytogenes* oxydase négatif) (Originale).

c. Le test mobilité

La souche *Listeria monocytogenes* de l'échantillon 9 était mobile à une température ambiante de 20-25°C mais immobile à 37°C. Le test a montré une image caractéristique d'un sapin renversé (parapluie), comme on peut le voir sur la figure suivante.



Figure 23: Aspect de *Listeria monocytogenes* sur gélose mannitol mobilité à 25°C (Originale).

d. Test d'hémolyse

Après 24 heures d'incubation à 37°C, la souche isolée de l'échantillon 9 sur une gélose au sang de cheval à 7% a montré une zone d'hémolyse étroite de type B, qui est une caractéristique typique de *Listeria monocytogenes* (Figure 24).

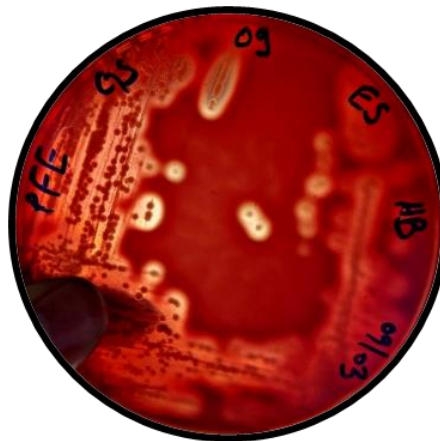


Figure 24: Aspect de *Listeria monocytogenes* sur gélose au sang frais (Originale).

e. Galerie Api Listeria

D'après les résultats de la galerie Api Listeria (Figure 25), la souche isolée a hydrolysé l'esculine mais n'a pas utilisé le glucose (G1P), le ribose (RIB), le D-Tagatose (TAG) et la xylose (XYL).

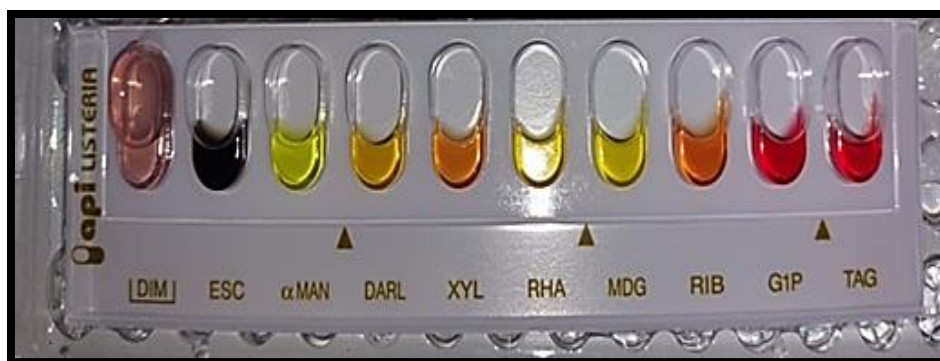


Figure 25: Résultats de la galerie Api Listeria (originale).

Ces résultats confirment que la souche est une *Listeria monocytogenes* avec un pourcentage de 98,5% selon apiweb.biomerieux.com (Figure 26).

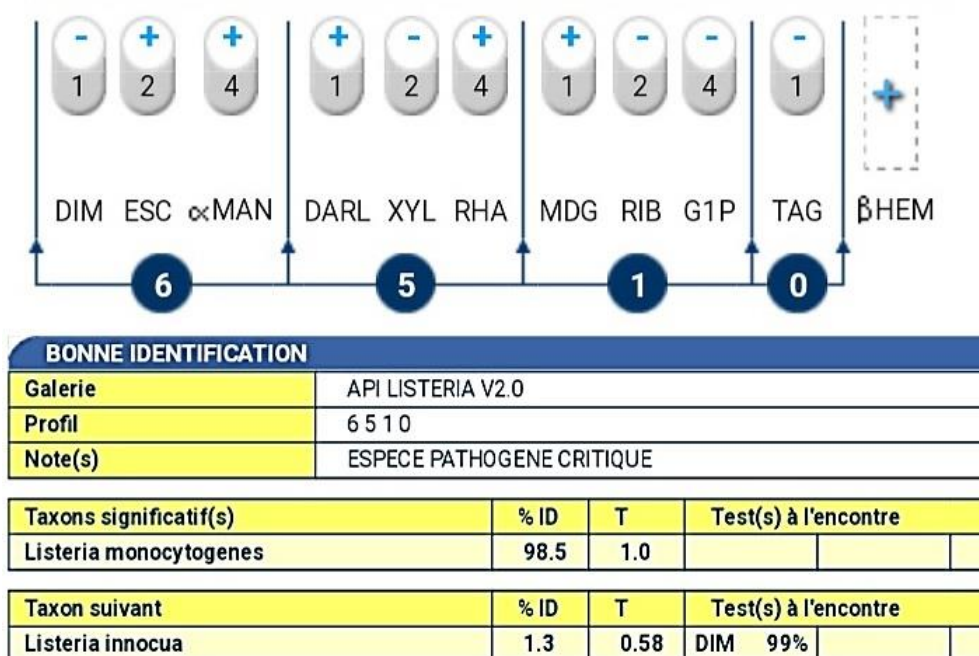


Figure 26: Résultats de la galerie Api Listeria sur le site apiweb.biomerieux.com (Originale).

D'après ces résultats, une seule souche de *Listeria monocytogenes* a été identifiée dans le lait de vache étudié, ce qui représente un taux de 10% sur la totalité des souches isolées par rapport à leur aspect morphologique (colonies bleues à bleues vertes dans 10 boîtes de Pétri) et de 5 % par rapport à la totalité (20 échantillons) des prélèvements examinés (Figure 27).

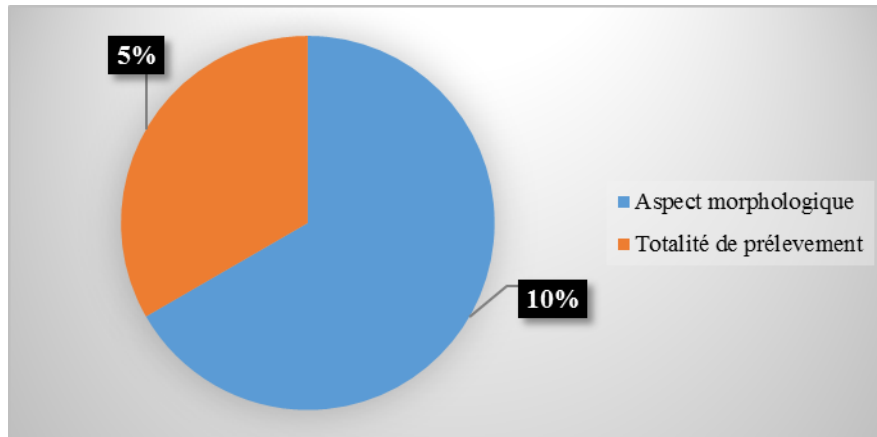


Figure 27: Nombre de *L. monocytogenes* confirmés dans les échantillons de lait cru de vache.

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de cette contamination, notamment la transmission de la bactérie aux vaches par la consommation d'ensilage et de foin contaminés, Ou par la présence de la bactérie dans l'environnement agricole. De plus, la bactérie peut être présente sur l'équipement de transformation des produits laitiers et dans les salles de traite.

IV.2 Rendement de l'extraction des extraits éthanoïques bruts

Pour évaluer le rendement des extraits éthanoïques, il est essentiel de tenir compte de la quantité de matière végétale utilisée pour l'extraction.

Les concentrations obtenues pour les extraits éthanoïques obtenus à partir de 4g et 10g de matière végétale sont présentées sur la Figure N°28 et indiquées dans les tableaux N° VI et VII (annexe n°4). Ces résultats représentent la quantité d'extrait éthanoïque obtenue par rapport à la quantité de matière végétale utilisée pour chaque méthode d'extraction.

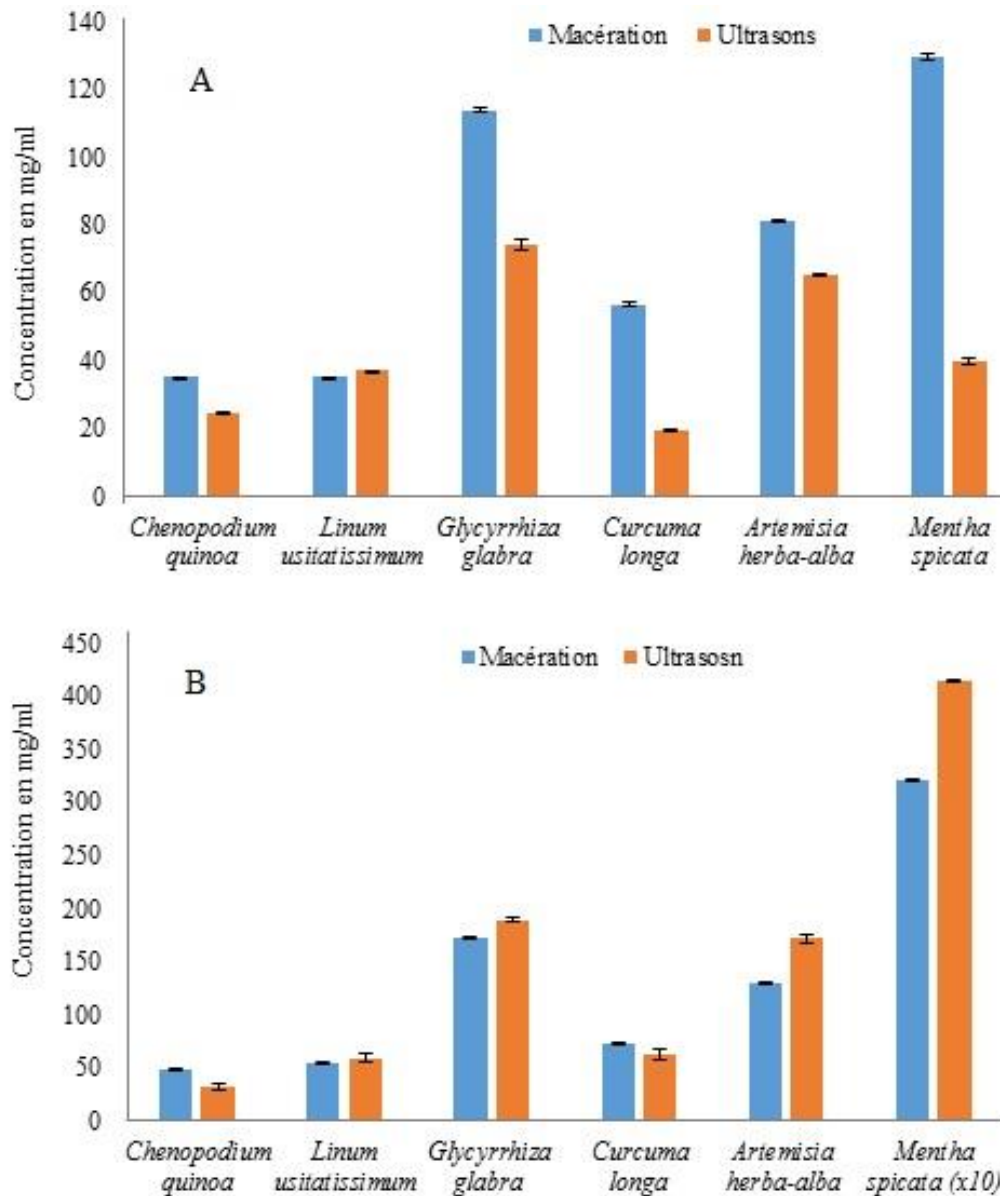


Figure 28: Concentrations d'extraits éthanoïques obtenus par macération et ultrasons.

A : concentrations d'extraits éthanoïques sur 4g, B : Concentrations d'extraits éthanoïques sur 10g

Les résultats montrent que la méthode de macération a généralement donné des concentrations légèrement plus élevées que celle assistée par ultrason, à l'exception de *Linum usitatissimum* où la méthode assistée par ultrason a donné une concentration légèrement plus élevée.

Lorsque 10 g de matière végétale ont été utilisés, la méthode assistée par ultrason a généralement produit des concentrations plus élevées, sauf pour *Chenopodium quinoa* et *Curcuma longa* où la macération a donné des concentrations plus élevées. Ces résultats

indiquent que les méthodes d'extraction ont des effets variables sur le rendement d'extraction, qui dépendent de la plante et des conditions d'extraction.

Une étude comparative par Romanik et ses collaborateurs des méthodes d'extraction par macération et d'extraction assistée par ultrason a été réalisée pour obtenir des extraits de différentes plantes. Les résultats ont montré que, dans l'ensemble, la méthode de macération a produit des concentrations légèrement plus élevées que celle assistée par ultrason. Cependant, lorsque de plus grandes quantités de matière végétale ont été utilisées, la méthode assistée par ultrason a généralement donné des concentrations plus élevées. Ces résultats soulignent l'importance des conditions d'extraction et suggèrent que la méthode assistée par ultrason peut être plus efficace si elle est optimisée (Romanik et al., 2007).

IV.3 L'activité antimicrobienne

La méthode de diffusion des disques sur gélose a révélé que les extraits de six plantes ont des propriétés antibactériennes contre six souches bactériennes, y compris *E. coli*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*, qui ont été isolées à partir de lait cru de vache, ainsi que leurs souches de référence.

Les volumes d'extraits utilisés étaient de 10 μ l pour 4g de matière végétale et 20 μ l pour 10g de matière végétale. L'éthanol à 70% a été utilisé comme témoin négatif. Les diamètres d'inhibition et les antibiotiques de référence utilisés sont présentés dans les deux figures 29 et 30.

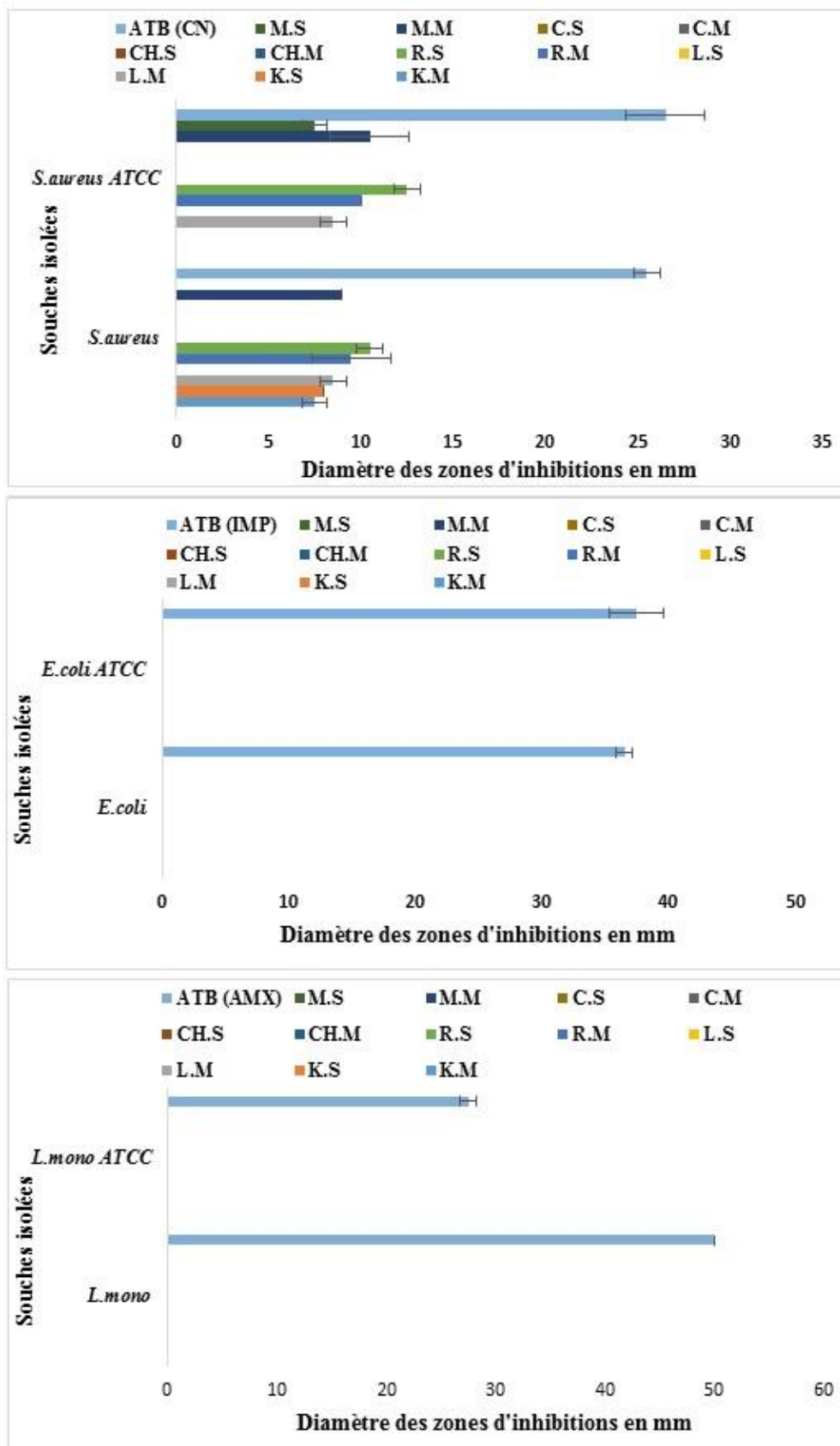


Figure 29: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits éthanoïque (4 g).

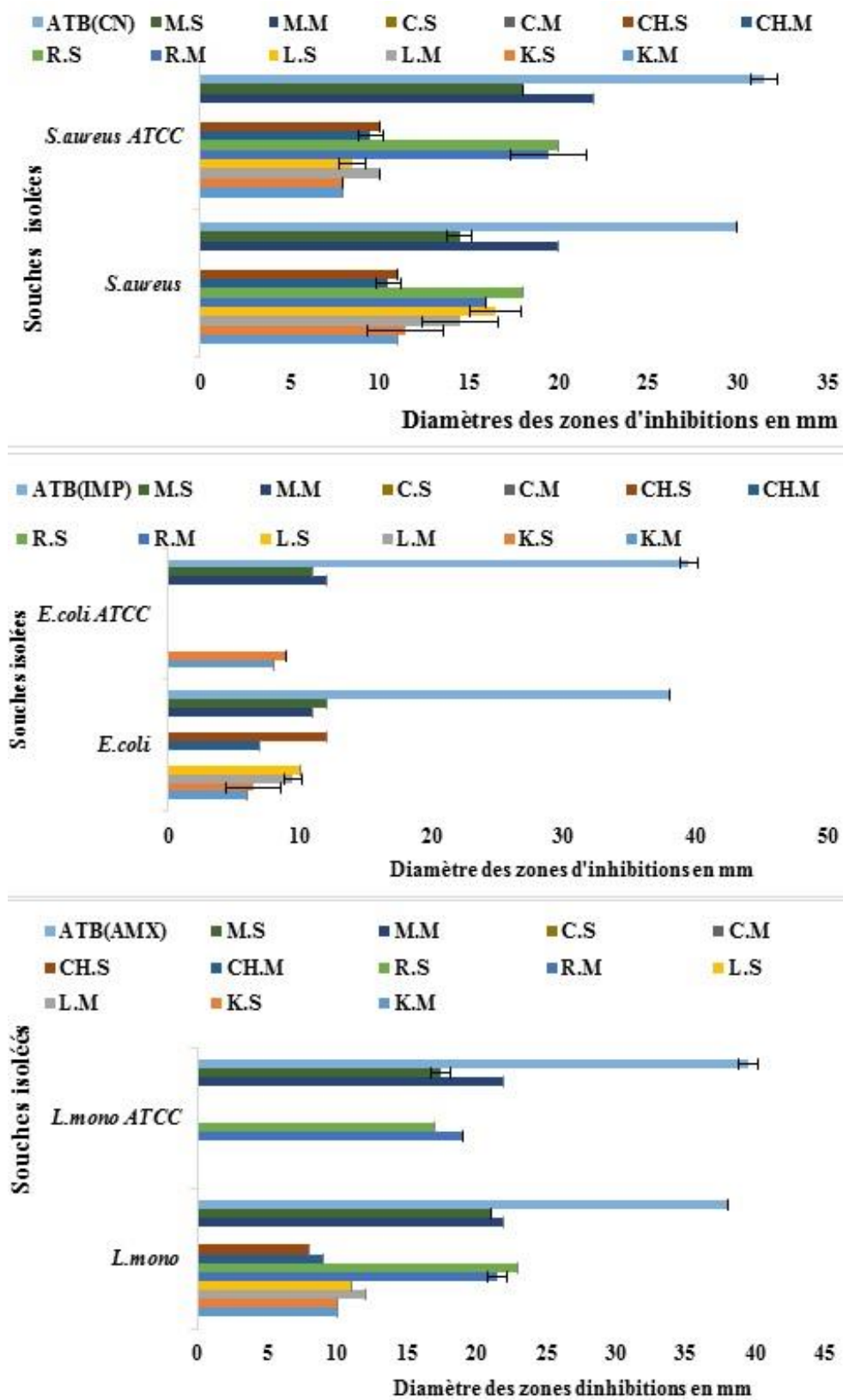


Figure 30: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits éthanoïque (10 g).

D'après les résultats des figures 30 et 31, toutes les souches bactériennes étudiées ont été extrêmement sensible aux contrôles positifs (Gentamycine, Imipenème, Amoxicilline).

Les résultats des tests d'activité antibactérienne ont montré que les souches *E. coli*, *E. coli* ATCC25922, *L. monocytogenes* et *L. monocytogenes* ATCC 7644 n'ont montré aucune sensibilité vis-à-vis des extraits testés, avec des diamètres d'inhibition variant de 7,5 à 10 mm. Les extraits de *Mentha spicata* et *Glycyrrhiza glabra* ont présenté une activité antibactérienne plus marquée, avec des diamètres d'inhibition allant de 18 à 23 mm contre *S. aureus* et *L. monocytogenes*. Cependant, une activité antimicrobienne légèrement inhibitrice a été observée contre *E. coli* et *E. coli* ATCC25922, avec des diamètres d'inhibition de 6 à 12 mm (annexe n°5). Les concentrations élevées des extraits (3212 mg/ml pour la menthe, 4154 mg/ml pour la réglisse) et un volume de 20 µl déposé sur les disques ont contribué à leur forte activité antimicrobienne.

Aucune activité antimicrobienne n'a été observée pour les autres extraits testés, ni pour les souches isolées ni pour les souches de référence ATCC, car les diamètres de la zone d'inhibition étaient inférieurs à 10 mm, ce qui est considéré comme non inhibiteur. Selon les résultats obtenus, il a été constaté que les diamètres des zones d'inhibition varient en fonction de l'extrait et de la souche testée.

Ces résultats obtenus du test de l'aromatogramme ont montré que les souches des bactéries isolées à partir de lait cru de vache ainsi que leurs souches ATCC présentent une sensibilité moyenne vis-à-vis de différents extraits éthanoliques, notamment aux extraits de *Mentha spicata* et *Glycyrrhiza glabra*. Les zones d'inhibition de ces dernières sont plus élevées, sur les bactéries à gram positive (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) que celle observée sur la bactérie Gram négatif (*E. coli*).

Aucune activité n'a été enregistré pour les autres extraits, il est probable que la qualité de ces derniers a été insuffisante et aussi la possibilité que les souches bactériennes présentent une résistance à ces extraits.

Cette étude est en accord avec celle trouvée par [Barchan et ces collègues](#) qui ont démontré par la technique de diffusion en puits que la plupart des souches à Gram positif notamment *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ont montré une sensibilité vis-à-vis des extraits méthanoliques de *Mentha spicata* avec des diamètres supérieurs à 12 mm dans

la plupart des cas. Alors que les souches à Gram négatif notamment *E. coli* a montré une résistante vis-à-vis à ces extraits (Barchan et al., 2016).

Les études réalisées par Shahbazi, en 2015, ont montré que l'huile essentielle de *Mentha spicata* a présenté une activité antibactérienne puissante contre les bactéries à Gram positif notamment contre *Listeria monocytogenes* avec zone d'inhibition égale à 22 mm. Par ailleurs, les diamètres obtenus contre *Staphylococcus aureus* est relativement proches, 31 mm (Shahbazi, 2015).

Les deux extraits *Mentha spicata* et *Glycyrrhiza glabra* donnent une activité antimicrobienne différente contre les souches testées grâce à leurs richesses en biomolécules actifs. De ce fait, la zone d'inhibition augmente largement avec l'augmentation de la concentration des extraits, ce qui a été constaté aussi par des travaux réalisés antérieurs.

IV.4 Détermination de la CMI et de la CMB

Les pourcentages d'inhibition de la croissance des souches bactériennes testées en fonction de concentration en extraits éthanoïques de deux plantes médicinales sont présentés sur les Figure 31 et 32.

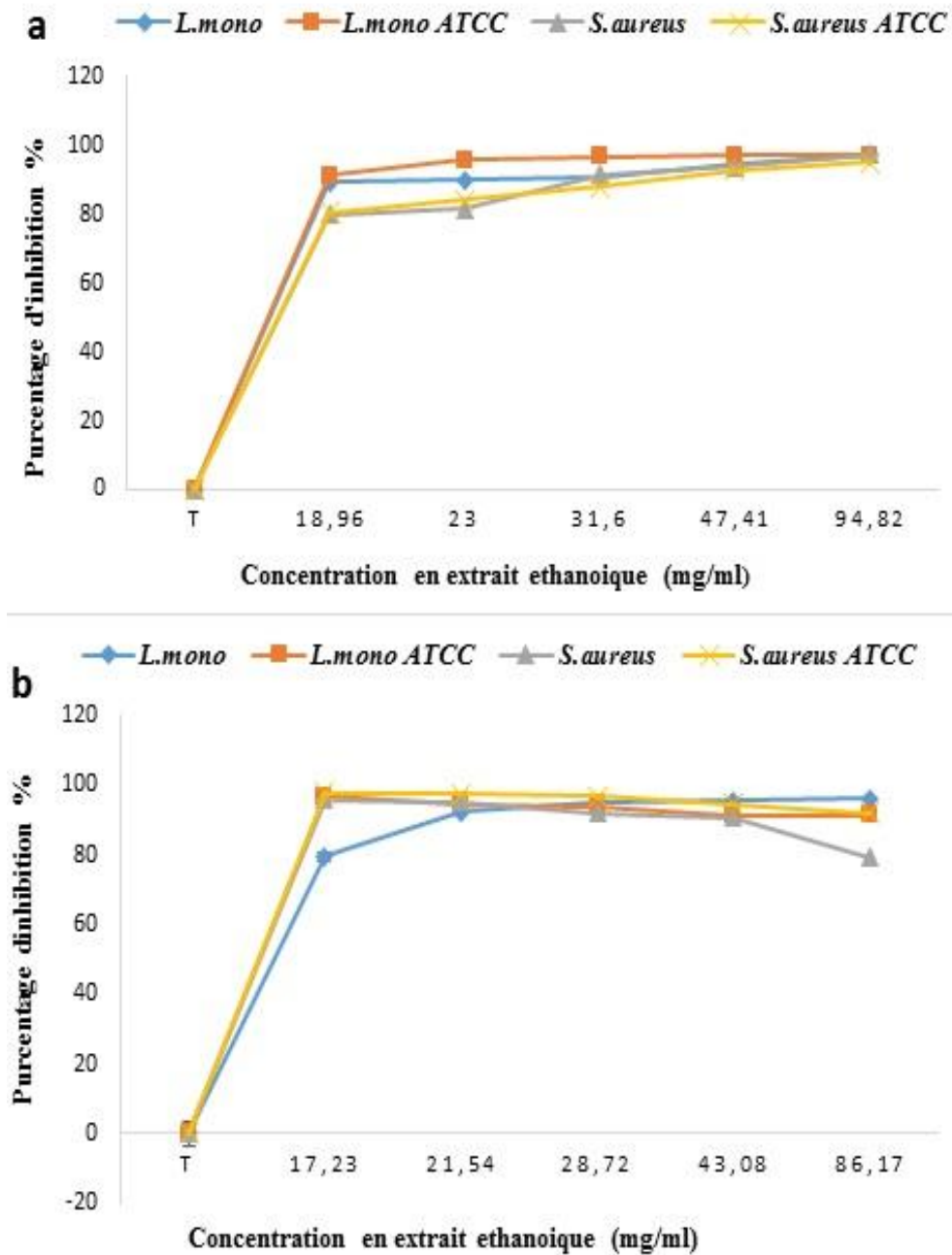


Figure 31: Pourcentage d'inhibition des extraits éthanœiques de *Glycyrrhiza glabra*. *a* : assistée par ultrason, *b* : extraction par macération.

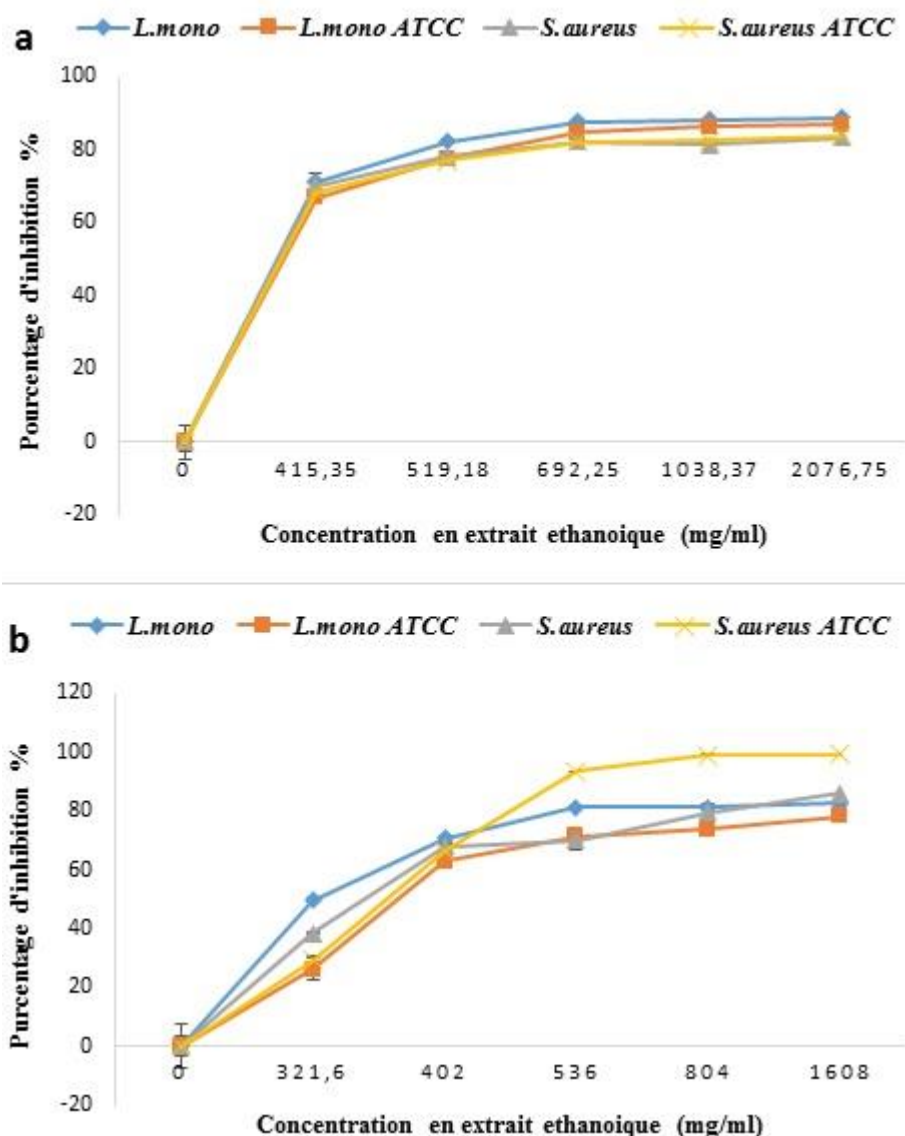


Figure 32: Pourcentage d'inhibition des extraits éthanœiques de *Mentha spicata*.
 a : extraction assistée par ultrason, b : extraction par macération.

Plusieurs études ont montré que le degré de sensibilité des bactéries testées vis-à-vis d'un même extrait végétal est supposé varier selon le Gram.

Les résultats montrent que les extraits de *Mentha spicata* et de *Glycyrrhiza glabra* ont une activité antibactérienne en inhibant la croissance in vitro des germes bactériens, notamment les souches *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* et les souches de référence *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 et *L. monocytogenes* ATCC 7644.

Les extraits de *Glycyrrhiza glabra* obtenus par ultrasons ont montré les valeurs les plus faibles de CMI et de CMB pour les souches *L. monocytogenes*, *S. aureus* et *S. aureus* ATCC

25923, avec des valeurs respectives de 18,96 mg/ml et 94,82 mg/ml. Les extraits de *Mentha spicata* obtenus par macération et ultrasons ont présenté les valeurs les plus élevées de CMI et de CMB pour toutes les souches testées, avec des valeurs de CMI allant de 321,6 à 415,35 mg/ml et des valeurs de CMB allant de 1608 à 692,25 mg/ml. Les extraits de *Glycyrrhiza glabra* obtenus par macération ont également montré des valeurs élevées de CMI (17,23 mg/ml) et de CMB (28,72 mg/ml) pour toutes les souches testées.

Selon [Shahbazi en 2015](#), les extraits éthanœiques de *Glycyrrhiza glabra* ont présenté la plus forte activité parmi les autres extraits testés. Leur étude a révélé que ces extraits ont une activité contre les bactéries à Gram positif, ce qui suggère leur potentiel en tant que matières premières pour la phytothérapie. De plus, il a constaté que *Mentha spicata* est particulièrement efficace contre *Listeria monocytogenes*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) aussi basse que 2,5 µg/ml ([Shahbazi, 2015](#)).

Selon les résultats obtenus, il a été constaté que les bactéries à Gram positif présentent une plus grande sensibilité aux extraits étudiés que les bactéries à Gram négatif. Cette observation est en accord avec des études récentes qui ont également démontré une activité antibactérienne plus prononcée contre les bactéries à Gram positif. Ces résultats concordent avec ceux rapportés dans notre étude précédente.

Les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* sont hautement sensibles aux extraits en raison de leur structure membranaire et de leur paroi cellulaire. Les bactéries à Gram positif, telles que ces deux souches, sont plus sensibles en raison de l'absence de membrane externe qui limite la pénétration des composés actifs. En revanche, les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes en raison de leur membrane externe qui restreint la diffusion des substances actives. Cette différence de sensibilité est attribuée à la capacité des composants actifs à interagir directement avec les phospholipides de la membrane cellulaire, ce qui peut altérer la perméabilité ionique et perturber les systèmes enzymatiques essentiels à l'intérieur des cellules bactériennes. Ainsi, les extraits ont une efficacité plus marquée contre les bactéries à Gram positif en raison de cette interaction directe avec leur structure cellulaire.

IV.5 Détermination de la nature de l'activité antibactérienne

Les extraits de *Mentha spicata* et *Glycyrrhiza glabra* obtenus par macération et ultrason ont démontré un rapport CMB/CMI compris entre 1 et 1,66, ce qui indique leur caractère

bactéricide. Ces résultats confirment l'efficacité de ces extraits dans la lutte contre les bactéries étudiées (Tableau VI).

Tableau VI: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) et pouvoir antibactérien des extraits bruts de *Glycyrrhiza glabra* et *Mentha spicata*.

Espèce	Modes d'extraction	Souches bactériennes	CMB/CMI	Pouvoir antibactérien
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Macération	<i>L. mono</i>	1,66	Bactéricide
		<i>L. mono</i> ATCC	1	Bactéricide
		<i>S. aureus</i>	1	Bactéricide
		<i>S. aureus</i> ATCC	1,25	Bactéricide
	Sonication	<i>L. mono</i>	5	Bactériostatique
		<i>L. mono</i> ATCC	1,66	Bactéricide
		<i>S. aureus</i>	5	Bactériostatique
		<i>S. aureus</i> ATCC	5	Bactériostatique
<i>Mentha spicata</i>	Macération	<i>L. mono</i>	1,66	Bactéricide
		<i>L. mono</i> ATCC	4	Bactéricide
		<i>S. aureus</i>	4	Bactéricide
		<i>S. aureus</i> ATCC	2	Bactéricide
	Sonication	<i>L. mono</i>	1,66	Bactéricide
		<i>L. mono</i> ATCC	1,66	Bactéricide
		<i>S. aureus</i>	1,66	Bactéricide
		<i>S. aureus</i> ATCC	1.66	Bactéricide

Les extraits de *Glycyrrhiza glabra* obtenus par ultrason ont montré une activité bactériostatique contre *L. monocytogenes*, *S. aureus* et *S. aureus* ATCC 25923, avec un rapport CMB/CMI de 5. Ils ont également présenté une activité bactéricide contre *L. monocytogenes* ATCC, avec un rapport CMB/CMI de 1,66.

Selon des études antérieures, un rapport CMB/CMI inférieur à 4 confirme le pouvoir bactéricide d'un extrait. Ainsi, les extraits de *Mentha spicata* et *Glycyrrhiza glabra* ont montré une forte activité bactéricide contre ces souches, offrant une alternative prometteuse aux traitements médicaux conventionnels en raison des préoccupations liées aux résistances aux antibiotiques et aux effets indésirables des médicaments (Boukhebti, 2011).

Conclusion

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits de plantes médicinales sur différentes souches de bactéries pathogènes, notamment *S. aureus*, *L. monocytogenes* et *E. coli* isolées à partir de lait cru de vache. Pour ce faire, la méthode de diffusion par disques a été utilisée pour mesurer l'efficacité des extraits, qui ont été préparés en utilisant deux méthodes différentes : l'extraction par macération et l'extraction assistée par ultrasons.

La présence de bactéries pathogènes dans le lait constitue un problème de santé publique préoccupant. Afin de trouver des alternatives, de nombreuses études ont exploré l'utilisation d'extraits de plantes médicinales. Dans le cadre de notre étude, nous avons constaté que parmi les échantillons de lait de vache examinés, 40% étaient contaminés par *S. aureus*, 10% par *E. coli* et 5% par *L. monocytogenes*.

Les extraits de *Mentha spicata* et de *Glycyrrhiza glabra* ont montré une activité antibactérienne significative contre *L. monocytogenes* et *S. aureus*, y compris leurs souches de référence, avec des diamètres d'inhibition élevés allant de 18 mm \pm 0,00 à 23 mm \pm 0,00, respectivement. La CMI pour la réglisse variait entre 17,23 mg/ml et 18,96 mg/ml, et la CMB entre 17,23 et 94,82. La CMI pour la menthe variait entre 321,6 mg/ml et 415,35 mg/ml, et la CMB entre 536 mg/ml et 1608 mg/ml.

Les résultats de cette étude *in vitro* sur l'effet antibactérien des extraits de plantes médicinales ont démontré leur grande efficacité contre un large éventail de bactéries impliquées dans la contamination du lait. Ces résultats suggèrent que ces extraits pourraient constituer une alternative prometteuse aux produits chimiques artificiels et aux antibiotiques, permettant ainsi d'améliorer la production laitière en réduisant la présence de bactéries indésirables et en améliorant la qualité du lait.

Cependant la présente étude, qui donne un aperçu général sur le potentiel antibactérien de ces extraits, reste préliminaire et pas indicative sur le mécanisme réel par lequel ils agissent, et elle ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement actives vis-à-vis les bactéries pathogènes du lait.

Donc plusieurs perspectives ont été dégagées pour approfondir cette étude à savoir :

- Evaluation de l'efficacité des extraits de plantes médicinales dans la production laitière et l'amélioration de la qualité du lait.

- Extraction des substances bioactive et études les mécanismes d'action de ces composés bioactifs pour mieux comprendre leur efficacité et leur application.
- Extrapolation les tests de laboratoire à l'échelle industrielle pour évaluer l'efficacité de différentes méthodes de traitement des extraits de plantes médicinales.

Références bibliographiques

A

- Afif A., Faid M. & Najimi M. (2008). Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 7(1) : 2-7.
- Ait Chaouche F. S. (2018). Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide des huiles essentielles et des extraits de deux *Lamiaceae*, thèse de Doctorat, ENSA El Harrach, Alger : 216
- Avoyne C., Butin M., Delaval J. & Bind J. L. (1996). Etude de la spécificité d'une méthode rapide pour l'identification de *Listeria monocytogenes* le Mono Confirm test. *Le Lait*, 76(4) : 405-411.

B

- Bachiri L., Echchegadda G., Ibjibijen J. & 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.
- Balasundram N., Sundram K. & Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1): 191-203.
- Bankole H. S., Semassa A. J., Anihouvi V. B., Dougnon T. V., Legonou M. & Toukourou F. (2013). Insulation test of *Listeria* in raw milk in Benin. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 2(5) : 396-400.
- Barchan A., Bakkali M., Arakrak A. & Laglaoui A. (2016). Antibacterial and anti-biofilm Effects of three species of Mentha: *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* and *Mentha piperita*. *Phytothérapie*, 14 : 88-96.
- Beneddouche B., & Lebres E. (2003). Fréquence des *Listeria* en Algérie entre 1998 et 2000. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 23(2) : 65-72.
- Benhedane née Bachtarzi N. & Amourache L. (2012). Qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est Algérien, thèse de doctorat, Université Frères Mentouri-Constantine 1 : 123.

Berger R. G. (Ed.). (2007). Flavours and fragrances : chemistry, bioprocessing and sustainability. Springer Science & Business Media. Library of congress control Number : 2006939012. ISBN 978-3-540-49338-9.

Birt D. F. & Jeffery, E. (2013). Flavonoids. *Advances in Nutrition*, 4(5): 576-577.

Böttger S. & Melzig, M. F. (2011). Triterpenoid saponins of the *Caryophyllaceae* and *Illecebraceae* family. *Phytochemistry Letters*, 4(2): 59-68.

Boukhebt H., Chaker A. N., Belhadj H., Sahli F., Ramdhani M., Laouer H. & Harzallah D. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Lettre*, 3(4) : 267-275.

Bourgou S., Beji, R. S., Medini F. & Ksouri R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences* :28.

Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Talbaoui A., Khouchlaa A., Charfi S., Abrini J & Dakka N. (2018). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), S173-S183.

C

Chabrier J. Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie [Thèse]. Nancy : Université Henri Poincaré faculté de pharmacie : 168

Coulibaly K. J., Kouame-Elogne C., Yeo A., Koffi C. & Dosso M. (2015). Qualité microbiologique des produits laitiers industriels vendus à Abidjan de 2009 à 2012. *Revue Bio-Africa*, 14 : 44-52.

F

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes rendus biologiques*, 331(5) : 372-379.

G

Gasanov U., Hughes D. & Hansbro P. M. (2005). Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. And *Listeria monocytogenes* : a review. *FEMS microbiology reviews*, 29(5): 851-875.

Ghazghazia H., Chediab A., Abderrazakb M. & Brahima H. (2013). Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de Tunisie. *Microbiol Hyg Alim*, 25(73) : 37-41.

Ghazi K. & A. Niar. "Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie)." *Tropicultura* 29.4 (2011): 193-196.

Guetouache M., Guessas B. & Medjekal S. (2014). Composition and nutritional value of raw milk. *J Issues Biol Sci Pharm Res*, 2350, 1588.

H

Hamiroune M., Berber, A., Boubekeur S. & Smar O. (2016). Evaluation de la qualité bactériologique du lait cru de vache à différentes étapes de la chaîne de production laitière dans des exploitations agricoles en Algérie. *Rev. Sci. Technologie. Désactivé. Int. Epiz* , 35 (3) : 925-946.

Hartmann T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22-24) : 2831-2846.

Hayette M. P., huynen p., & meex C. (2010). Travaux pratiques de microbiologie générale.

J

Jakob E., Winkler H. & Haldemann J. (2009). Critères Microbiologiques Pour la fabrication du fromage. *Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions*, (77) : 5-31.

Jean B. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.

Jomova K. & Valko M. (2013). Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. *European journal of medicinal chemistry*, 70: 102-110

K

Koffi A. E., Obouayeba P. A., Akre S. D., Kouadio L. M., Sakirigui A., Ehouman A.M. & Ackah A. 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.

L

Laithier C. (2011). Microflore du lait cru. Vers une meilleure connaissance des écosystèmes microbiens du lait et de leurs facteurs de variation. Filières fromagères valorisant leur terroir : 11-20.

Lapointe-Vignola C. (2002). Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses inter Polytechnique.

M

Macheix J.-J., A. Fleuriet & Jay-Allemand C. (2005) Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique : PPUR presses polytechniques.

Merad F. & Mahiout T., (2019). Contribution à l'étude de conformité des drogues pour tisanes vendues en officines , Université Mouloud Mammeri Faculté de Médecine, Département de pharmacie, Tizi Ouzou. Algérie : 148

Mokhtari H. 2017. Caractérisation de l'activité antioxydante et cicatrisante de l'extrait aqueux de *Cirsium dissectum*. Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie.

N

Noblet B. (2012). Le lait: produits, composition et consommation en France. *Cahiers de Nutrition et de Dietétique*, 47(5) : 242-249.

O

Ouedraogo S., Yoda J., Traore T. K., Nitiema M., Sombie B. C., Diawara H. Z., yameogo J., djande A., belemnaba L., kini F.B., ouedraogo S & Semde R. (2021). Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(2): 750-772.

P

Poueme N. R. S. (2006). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique du lait dans la filière artisanale au Sénégal, thèse de Doctorat : Médecine vétérinaire, Dakar : 23p.

Prescott L. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M. & Woolverton, C. J. (2010). Microbiologie. De Boeck université.

R

Reiner K. (2010). Catalase test protocol. *American society for microbiology*, 1-6.

Romanik G., Gilgenast E., Przyjazny A. & Kamiński M. (2007). Techniques de préparation du matériel végétal pour la séparation chromatographique et l'analyse. *Journal des méthodes biochimiques et biophysiques*, 70 (2) : 253-261.

S

Sanogo Y., Guessennd N. K., Bi, H. T., Kouadio N. J., Konan F. K., Bamba M. & 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.

Sauvion N., Calatayud P. A., Thiéry D. & Marion-Poll F. (2013). Interactions insectes-plantes. Editions Quae.

Shahbazi Y. (2015). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Mentha spicata* essential oil against common food-borne pathogenic bacteria. *Journal of pathogens*, (15): 5

Sperber W. Z. & Tatini S. R. (1975). Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Applied microbiology*, 29(4): 502-505.

T

Thairu Y., Nasir I. A. & Usman Y. (2014). Laboratory perspective of gram staining and its significance in investigations of infectious diseases. *Sub-Saharan African Journal of Medicine*, 1(4) : 168.

Thieulon M. (2005). Laits pathogènes staphylocoques. *Revue de la chambre d'agriculture du Cantal* : 21-28.

Tourdjman M., Laurent, É. & Leclercq, A. (2014). Listériose humaine : une zoonose d'origine alimentaire. *Revue francophone des laboratoires*, (464) : 37-44.

V

Vercauteren J. (2006). Plan, Schéma, Formules du cours Pharmacognosie. Université Montpellier I, Laboratoire de Pharmacognosie : 8

Y

Yinyang J., Mpondo E. M., Tchatat M., Ndjib R. C., Ottou P. M. & Dibong S. D. (2014). Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 78: 6600-6619.

Yörük N. G. (2018). Most probable number technique in *Escherichia coli* count using ISO 16649-3, ISO 7251, and rapid test enumeration device (TEMPO EC) methods in milk and dairy products. *Journal of Food Safety*, 38(5): e12502.

Z

Zielińska M. A., Wesołowska A., Pawlus B. & Hamułka J. (2017). Health effects of carotenoids during pregnancy and lactation. *Nutrients*, 9(8): 838.

Zoghلامي, M., Yerou, H., Yerou, W., & Homrani, A. (2022). Impact du stress thermique sur les critères de qualité du lait cru de vaches Holsteins en zone semi-aride de l'Ouest algérien. *Livestock Research for Rural Development*, 34.

Annexes

Annexe n°1 : Les équipements, la verrerie, les appareils ainsi que les milieux de cultures utilisés.

Equipements de laboratoire

- Bec bunsen.
- Spatule.
- Balance « SARTORIUS)
- Congélateur, réfrigérateur, chambre froide.
- Plaque agitatrice « magnetic motion ».
- Microscope optique.
- Etuve bactériologique (memmert).
- Papier whatman
- Propipette.
- Densitomètre « biosan »
- Autoclave à 120 °C.
- Bain marie.
- Tamis.
- Porte burette.
- Bain à ultrason « P-SELECTR »
- Etuve ventilée.
- Disques filtrant à seringue.
- Micropipette « eppendorf »
- Embouts stériles « eppendorf ».
- Vortex « IKA- WERK ».

Réactifs

- Huile à immersion.
- Colorants de Gram.
- Eau oxygénée.
- Ampoule de suspension
medium de 2ml.
- Ampoule de réactif ZYM B.

Consommable

- Eau distillé, milieu TSE.
- Ethanol 75%.
- Bouillon Frazer avec supplément
- *Api Listeria*.
- Plasma de lapin.
- Gélose OCLA avec supplément
- Gélose OXFORD.
- Gélose au sang.
- Gélose Baird Parker.
- Gélose TBX.
- Gélose mobilitee.
- Gélose TSI.
- Gélose Hektoen.
- Gélose nutritive.
- Milieu Muller-Hinton
- Bouillon SFB à double concentration.

Matériel biologique

- Souches bactériennes isolée de lait cru de vache : *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*

- Souches de références : *S. aureus* ATCC25923, *L. monocytogenes* ATCC7644, *E. coli* ATCC25922.
- Les plantes médicinales : *Chenopodium quinoa* (Quinoa), *Glycyrrhiza glabra* (Réglisse glabre), *Curcuma longa*, *Mentha spicata*, *Artemisia herba-alba* (Chih) et *Linum usitatissimum* (Lin).

Verrerie

- Fiole jaugée.
- Boîte pétrie en verre.
- Tubes à essai.
- Entonnoir.
- Béchers.
- Flacons en verre stériles de 250 ml, 500 ml.
- Pipettes graduées stériles (5-10 ml).
- Pipettes Pasteur.
- Lames et lamelles.
- Erlenmeyer.
- Eprouvettes jaugées (100-500 ml).
- Pipettes de 1ml ,2ml, 5ml.

Annexe n°2: Milieux de culture utilisés.

Gélose OCLA

Composition pour 1L

- Enzymatic digest of animal tissues: 18g
- Enzymatic digest of cascein: 6g
- Yeast extract: 10 g
- Sodium pyruvate: 2 g
- Glucose: 2 g
- Magnésium glycerophosphate: 1 g
- Magnesium sulphate: 0,5 g
- Sodium chloride: 5 g
- Lithium chloride: 10g
- Di-sodium hydrogen phosphate: 2,5 g
- Agar: 12 g.

Gélose OXFORD

Composition pour 1L

- Peptone: 23,0g

Bouillon FRASER

Composition pour 1L

- KH₂P₀₄: 1,35g
- Esculine: 1,0 g
- Chlorure de lithium (LiCl): 3,0 g
- Extraits de levure: 5,0g
- Extraits de viande de bœuf: 5,0 g
- Protéose peptone: 5,0 g
- Digestion pancréatique de caséine: 5,0
- Na₂HPO₄: 12,0g
- NaCl: 20,0 g

TSE

- Tryptone 1,0 g
- Chlorure de sodium 8,5 g
- Eau distillée 1L

- LiCl:15,0g
- Agar: 10,0 g
- Amidon de maïs:1,0 g
- Esculine:1,0 g
- Citrate de fer ammoniacal : 0,5 g
- Solution d'antibiotiques:10,0 m
- Sur gélose OXFORD, les colonies de Listeria apparaissent noires et entourées d'un halo noir
- Solution d'antibiotiques pour la gélose Oxford
- Cycloheximide: 0,4 g
- Sulfate de colistine : 0,02 g
- Fosfomycine: 0,01 g
- Acriflavine: 5,0 mg
- Cefotétan:2,0 mg
- Éthanol (solution à 50%) : 10,0 ml

TSI

- Extrait autolytique de levure 3,0 g
- Extrait de viande 3,0 g
- Peptone 20,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Lactose 10,0 g
- Saccharose 10,0 g
- Glucose 1,0 g
- Thiosulfate de sodium 0,3 g
- Citrate de fer (III) 0,3 g
- Rouge de phénol 24,0 mg
- Agar agar bactériologique 9,0 g

Gélose au sang à 7%

- Gélose nutritive 225 ml
- tube de sang de cheval de 10ml

Hektoen

- Protéose-Peptone : 12,0 g
- Extrait de levure : 3,0 g
- Désoxycholate de sodium : 9,0 g
- Lactose : 12,0 g
- Saccharose : 12,0 g
- Salicine : 2,0 g
- Bleu de bromothymol : 65 mg
- Fuchsine acide : 100 mg
- Thiosulfate de sodium : 5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal : 1,5 g
- Chlorure de sodium : 5,0 g
- Agar 15,0 g
- Eau distillée 1 L

Gélose de Baird-Parker

- Peptone pancréatique de caséine 10 g
- Extrait de levure 1 g
- Extrait de viande 5 g
- Pyruvate de sodium 10 g
- Li Cl 5 g
- Glycine 12 g
- Gélose 15 g
- Eau distillée 1000 ml
- Solution de tellurite de potassium 1ml
- Émulsion de jaune d'œuf 5ml

Muller Hinton

- Hydrolysate acide de caséine 17.5g
- Infusion de viande 2g
- Amidon soluble 1.7g Agar bactériologique 17g

Gélose mannitol mobilité

Composition pour 1L

- Peptone de viande 15g
- Extraits: 3 g
- Agar-agar. g
- 5
- Mannitol 10 g
- Potassium nitrate 1g
- Rouge de phénol 0,05 g

TBX

- Digestat enzymatique de caséine 20g
- Sels biliaires 1,5g
- BCIG 0,075 g
- Agar 12 g.
- Eau distillée 1000 ml.

Annexe n°3 : Coloration de Gram

Les Différentes étapes sont :

- Préparation et fixations de frottis bactérien en faisant passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec Bunsen.
- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé.
- Laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.
- Rincer à l'eau.
- Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.
- Laisser agir 20 secondes.
- Décoloration à l'alcool : verser goutte à goutte l'alcool sur la lame, et surveiller la décoloration pendant 5 à 10 secondes)
- Rincer à l'eau
- Contre-colorer en déposant la solution de fuchsine (rose) pendant 30 secondes. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente.
- Rincer à l'eau puis laisser sécher.
- Observer au microscope (grossissement 400x ou, avec une goutte d'huile à immersion, au grossissement 1000x).

Annexe n°4 : tableaux des concentrations d'extraits éthanoïques obtenus par macération et ultrasons sur 4 g et 10 g de matière végétale.

Tableau VII : Concentrations d'extraits éthanoïques obtenus par macération et ultrasons sur 4 g de matière végétale.

Extraits	Macération	Ultrasons
<i>Chenopodium quinoa</i>	35 mg/ml	24,5 mg /ml
<i>Linum usitatissimum</i>	35 mg/ml	37 mg/ml
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	113,5 mg/ml	73 mg /ml
<i>Curcuma longa</i>	56 mg/ml	19 mg/ml
<i>Artemisia herba-alba</i>	81 mg/ml	65 mg/ml
<i>Mentha spicata</i>	129 mg/ml	39 mg/ml

Tableau VIII : Concentrations d'extraits éthanoïques obtenus par macération et ultrasons sur 10 g de matière végétale.

Extraits	Macération	Ultrasons
<i>Chenopodium quinoa</i>	50 mg/ml	30 mg /ml
<i>Linum usitatissimum</i>	54 mg/ml	56 mg/ml
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	172 mg/ml	188 mg /ml
<i>Curcuma longa</i>	80 mg/ml	60 mg/ml
<i>Artemisia herba-alba</i>	131 mg/ml	169 mg/ml
<i>Mentha spicata</i>	3212 mg/ml	4154 mg/ml

Annexe n°5 :

Tableau IX : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne des extraits éthanoïque sur 4 g de matière végétale (NA) : **Non Actif** ; **ATB** : antibiotique de référence ; **CN15** : Gentamicine (15µg/disc) ; **IPM15** : Imipenème (15µg/disc) ; **AMX20** : Amoxicilline (20µg/disc)

Espèce	Zones d'inhibition (mm)					
	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i> ATCC	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> ATCC	<i>L.mono</i>	<i>L.mono</i> ATCC
K.M	7,5± 0,70	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
K.S	8 ± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
L.M	8,5 ± 0,70	8,5 ± 0,70	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
L.S	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
R.M	9,5 ± 2,12	10 ± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
R.S	10,5 ± 0,70	12,5 ± 0,70	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
CH.M	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
CH.S	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
C.M	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
C.S	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
M.M	9 ± 0,00	10,5 ± 2,12	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
M.S	0± 0,00	7,5 ± 0,70	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
ATB	CN (S) = 25,5 ± 0,70	CN (S)= 26,5 ± 2,12	IMP (S)= 36,5±0,70	IMP (S)= 37,5± 2,12	AMX (S)= 50 ± 0,00	AMX (S)= 27,5 ± 0,70

Tableau X : Diamètres des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne des extraits éthanoïque sur 10 g de matière végétale (NA) : **Non Actif** ; **ATB** : antibiotique de référence ; **CN15** : Gentamicine (15µg/disc) ; **IPM15** : Imipenème (15µg/disc) ; **AMX20** : Amoxicilline (20µg/disc)

Espèce	Zones d'inhibition (mm)					
	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i> ATCC	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> ATCC	<i>L.mono</i>	<i>L.mono</i> ATCC
K.M	11 ± 0,00	8 ± 0,00	6 ± 0,00	8 ± 0,00	10 ± 0,00	0± 0,00
K.S	11,5 ± 2,12	8 ± 0,00	6,5 ± 2,12	9 ± 0,00	10 ± 0,00	0± 0,00
L.M	14,5 ± 2,12	10 ± 0,00	9,5 ± 0,70	0± 0,00	12 ± 0,00	0± 0,00
L.S	16,5 ± 1,41	8,5 ± 0,70	10 ± 0,00	0± 0,00	11 ± 0,00	0± 0,00
R.M	16 ± 0,00	19,5 ± 2,12	0± 0,00	0± 0,00	21,5 ± 0,70	19 ± 0,00
R.S	18 ± 0,00	20 ± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	23 ± 0,00	17 ± 0,00
CH.M	10,5 ± 0,70	9,5 ± 0,70	7 ± 0,00	0± 0,00	9 ± 0,00	0± 0,00
CH.S	11 ± 0,00	10 ± 0,00	12 ± 0,00	0± 0,00	8 ± 0,00	0± 0,00
C.M	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
C.S	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00	0± 0,00
M.M	20 ± 0,00	22 ± 0,00	11 ± 0,00	12 ± 0,00	22 ± 0,00	22 ± 0,00

Résumé

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'effet antibactérien de six extraits de plantes, à savoir *Chenopodium quinoa*, *Glycyrrhiza glabra*, *Curcuma longa*, *Mentha spicata*, *Artemisia herba-alba* et *Linum usitatissimum*, sur des souches bactériennes isolées à partir de lait cru de vache. Les extraits ont été préparés en utilisant deux méthodes, à savoir la macération et les ultrasons, et leur activité antimicrobienne a été évaluée in vitro en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Les extraits de *Mentha spicata* et *Glycyrrhiza glabra* ont présenté une activité antibactérienne modérée contre *S. aureus* et *L. monocytogenes*, avec des diamètres d'inhibition allant de 16 mm \pm 0,00 à 23 mm \pm 0,00. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait de réglisse variait de 17,23 mg/ml à 18,96 mg/ml, tandis que la concentration minimale bactéricide (CMB) variait de 17,23 à 94,82 mg/ml. Pour l'extrait de menthe, la CMI était comprise entre 321,6 mg/ml et 415,35 mg/ml, tandis que la CMB était comprise entre 536 mg/ml et 1608 mg/ml. Ces extraits de plantes pourraient donc être envisagés comme des agents potentiels pour lutter contre les agents pathogènes présents dans le lait cru de vache.

Mots clés : Activités antibactériennes, Biomolécules, Plantes médicinales, Lait cru de vache, Bactéries pathogènes.

Abstract

The aim of our study is to determine the antibacterial effect of six plant extracts, including *Chenopodium quinoa*, *Glycyrrhiza glabra*, *Curcuma longa*, *Mentha spicata*, *Artemisia herba-alba*, and *Linum usitatissimum*, against bacterial strains isolated from raw cow milk. The extract were performed following two methods, maceration and ultrasound, and their antimicrobial activity was evaluated in vitro using the disk diffusion method. *Mentha spicata* and *Glycyrrhiza glabra* extracts showed moderate antibacterial activity against *S. aureus* and *L. monocytogenes*, with inhibition zone diameters ranging from 16 mm \pm 0.00 to 23 mm \pm 0.00. The minimum inhibitory concentration (MIC) of licorice extract varied from 17.23 mg/ml to 18.96 mg/ml, and the minimum bactericidal concentration (MBC) ranged from 17.23 to 94.82 mg/ml. For mint extract, the MIC ranged from 321.6 mg/ml to 415.35 mg/ml, and the MBC ranged from 536 mg/ml to 1608 mg/ml. These plant extracts could be utilized to combat pathogens present in raw cow milk.

Keywords: Antibacterial activities, Biomolecules, Medicinal plants, Raw cow's milk, Pathogenic bacteria.

الملخص

تهدف دراستنا إلى تحديد التأثير المضاد للبكتيريا لستة مستخلصات نباتية، بما في ذلك عرق السوس، الكينوا، الكركم، النعناع، الشيح وبزور الكتان، ضد سلالات بكتيرية معزولة من حليب البقر الخام. تم تحضير المستخلصات باستخدام طريقتين النقع والموجات فوق الصوتية، وتم تقييم نشاطها المضاد للميكروبات في المختبر باستخدام طريقة انتشار القرص. أظهرت مستخلصات النعناع وعرق السوس نشاطاً مضاداً معتدلاً ضد المكورات العنقودية الذهبية والليستيرية المستوحدة، بأقطار منطقة التثبيط تتراوح بين 16 مم \pm 0.00 إلى 23 مم \pm 0.00. كانت قيمة التركيز للحد الأدنى للتثبيط للنمو البكتيري للمستخلص من عرق السوس يتراوح من 17.23 ملغ / مل إلى 18.96 ملغ / مل وتركيز الحد الأدنى المميت للنمو البكتيري من 17.23 إلى 94.82. كانت قيمة التركيز الحد الأدنى للتثبيط للنمو البكتيري للنعناع تتراوح من 321.6 ملغ / مل إلى 415.35 ملغ / مل وتركيز الحد الأدنى المميت للنمو البكتيري من 536 إلى 1608 ملغ/مل. لذلك يمكن استخدام هذه المستخلصات النباتية لمحاربة مسببات الأمراض في حليب البقر الخام.

الكلمات الرئيسية: الأنشطة المضادة للبكتيريا، الجزيئات الحيوية، النباتات الطبية، حليب البقر الخام، البكتيريا الممرضة