



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

THEME

Contribution à l'étude de l'activité biologique de la mélisse officinale (*Melissa officinalis* L.)

Réalisé par :

M^{elle} SAHNOUN Meriem

M^{elle} SADOUN Meriem

Soutenu le 18/09/2024 devant le jury composé de :

Présidente	Mme.	CASASNI L.	MAB	U. Khemis Miliana
Promotrice	Mme.	KOCHERANE R.	MAB	U. Khemis Miliana
Co-promotrice	Mme	ITATAHINE A.	MAB	U. Khemis Miliana
Examinatrice	Mme	GHOMARI F.N.	MAA	U. Khemis Miliana

REMERCIEMENTS

Après la fin des travaux, il n'y a rien de plus beau ni de plus doux que la louange et la grâce à Dieu, comme il se doit à la gloire de Son visage et à la grandeur de Son autorité, ainsi qu'à Sa grande bonté et Sa bienveillance pour ce qu'Il nous a accordé afin de compléter cette modeste recherche. Prières et paix soient sur le prophète le plus honorable.

Nous ne pouvons que féliciter et remercier chaleureusement tous ceux qui ont contribué à la réalisation de cette recherche.

Nous tenons à exprimer notre gratitude particulière à notre promotrice, Mme KOCHERANE R, pour avoir accepté de diriger ce mémoire, pour sa grande disponibilité, sa patience, ainsi que pour ses précieux conseils et son dévouement tout au long de ce travail. Nous adressons également nos remerciements à notre co-promotrice, Mme ITATAHINE A, pour son soutien et son respect sincère.

Nous exprimons notre reconnaissance à Mme CASASNI L pour avoir bien voulu examiner et présider ce jury.

Nous sommes profondément reconnaissants à Mme GHOMARI F N qui a aimablement accepté de faire partie du jury.

Nous tenons également à remercier chaleureusement Mr CHAOUCHI pour son aide précieuse.

Un grand merci à tous les professeurs du département de biologie et aux ingénieurs de laboratoires de la faculté SNV. Nous remercions également le laboratoire d'analyses médicales ZIBOUCHE et MERIBAI pour leur soutien et leur collaboration.

Enfin, nous exprimons notre gratitude à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, même par un mot gentil.



DÉDICACE

L'histoire s'est terminée, et j'ai levé mon chapeau en disant au revoir aux années écoulées. Je dédie ma remise de diplôme à celle qui est restée éveillée la nuit pour éclairer mon chemin, à celle qui m'a soutenue par ses prières, à la plus merveilleuse femme de l'existence, ma chère mère.

À celui qui m'a appris que le monde est un combat et que son arme est la science et la connaissance, à celui qui s'est efforcé pour mon confort et mon succès, au plus grand homme de l'univers, mon cher père.

À celui qui m'a soutenue dans mon parcours universitaire, à celui qui m'a encouragée et motivée, et qui n'a ménagé ni temps ni effort pour m'aider, à mon cher mari et compagnon de route, Kacem.

Je dédie le fruit de ma réussite à mes chers frères Abdelwahid et Hamza, ainsi qu'à leurs épouses. Que Dieu les préserve et leur accorde santé et bien-être.

À ma deuxième famille, la famille Chelabi, que Dieu les protège.

À ma cousine Wissam Yasmine.

À mes amies Marwa, Amal, Maria, Meryem, et Zahya.

Et à tous ceux que j'ai rencontrés au cours de ma carrière.

SAHNOUN MERYEM



DÉDICACE

Avec une immense joie, je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères de ma vie, **mes parents**, en reconnaissance de leurs sacrifices, prières, encouragements et soutien qu'ils m'ont toujours apportés. Leur fierté envers moi aujourd'hui est la plus belle récompense que je puisse recevoir.

À **mes frères et sœurs**, ainsi qu'à leurs enfants, je souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.

À **mes amies et collègues** chères : Fatima Zahra, Asma, Khawla, Karima, et particulièrement à ma précieuse collègue Maryam, je vous souhaite beaucoup de réussite et je vous remercie de faire partie de ma vie.

À tous ceux que j'aime et qui occupent une place spéciale dans mon cœur, en témoignage de mon affection profonde et de ma sincère amitié.

SAADOUN MERYEM

Résumé

Cette étude porte sur l'évaluation phytochimique des métabolites secondaires et des propriétés biologiques de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Melissa officinalis*, récoltée dans la région d'Hammam Melouane (Blida). L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée sur des souches bactériennes comprenant *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que sur la souche fongique *Aspergillus brasiliensis*.

Le rendement d'extraction par l'éthanol est de 5,1 %. L'analyse phytochimique révèle une teneur élevée en phénols totaux ($30,80 \pm 1,53$ mg EAG/g MS), associée à de faibles concentrations en flavonoïdes ($1,693 \pm 0,03$ mg EQ/g MS) et en tanins condensés ($3,32 \pm 0,02$ mg EC/g MS). Le pouvoir antioxydant, mesuré par la valeur IC50, est de $43,26 \pm 0,40$ µg/ml pour l'extrait éthanolique, comparé à $31,047 \pm 0,48$ µg/ml pour le standard (acide ascorbique). Les tests biologiques indiquent l'absence d'activité antibactérienne contre les souches testées, tandis que l'extrait montre une activité antifongique significative, avec un taux d'inhibition de 75 % contre *Aspergillus brasiliensis*. Ainsi, l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* présente des propriétés antioxydantes et antifongiques notables, sans manifester d'activité antibactérienne.

Mots-clés : *Melissa officinalis*, Extrait éthanolique, activité antioxydante, activité antimicrobienne, métabolites secondaires.

Abstract

This study focuses on the phytochemical evaluation of secondary metabolites and the biological properties of the ethanolic extract from the aerial parts of *Melissa officinalis*, collected from the Hammam Melouane region (Blida). The antimicrobial activity was evaluated on bacterial strains including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and the fungal strain *Aspergillus brasiliensis*.

The ethanol extraction yield was 5.1%. Phytochemical analysis revealed a high content of total phenols (30.80 ± 1.53 mg GAE/g DW), along with low concentrations of flavonoids (1.693 ± 0.03 mg QE/g DW) and condensed tannins (3.32 ± 0.02 mg CE/g DW). The antioxidant activity, measured by the IC₅₀ value, was 43.26 ± 0.40 µg/ml for the ethanolic extract, compared to 31.047 ± 0.48 µg/ml for the standard (ascorbic acid).

Biological assays showed no antibacterial activity against the tested strains, while the extract exhibited significant antifungal activity with a 75% inhibition rate against *Aspergillus brasiliensis*. Thus, the ethanolic extract of *Melissa officinalis* exhibits notable antioxidant and antifungal properties, with no antibacterial activity.

Keywords: *Melissa officinalis*, antioxidant activity, antimicrobial activity, secondary metabolites.

ملخص

تتمحور هذه الدراسة حول التقييم الفيتوكيميائي للمواد الثانوية والخصائص البيولوجية للمستخلص الإيثانولي من الأجزاء الهوائية لنبات *Melissa officinalis* ، التي تم جمعها من منطقة حمام ملوان (بليدة). تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات على السلالات البكتيرية بما في ذلك *Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، والسلالة الفطرية *Aspergillus brasiliensis*

كان مردود المستخلص باستخدام الإيثانول 5.1. أظهر التحليل الفيتوكيميائي محتوى عال من الفينولات الإجمالية (30.80 + 1.53 mg ، مع تركيزات منخفضة من الفلافونويدات (0.03 ± 1.693 mg) MS) والتانينات المكثفة (0.02 ± 3.32 mg EC/g MS). كان النشاط المضاد للأكسدة، الذي تم قياسه باستخدام قيمة IC50 ، 43.26 ± 0.40ml للمستخلص الإيثانولي مقارنة بـ 10.48 ± 31.047 ng/ml للمعيار (حمض الأسكوربيك).

أظهرت الاختبارات البيولوجية غياب النشاط المضاد للبكتيريا ضد السلالات التي تم اختبارها، في حين أن المستخلص أظهر نشاطاً فطرياً كبيراً مع معدل تثبيط قدره 75% ضد *Aspergillus brasiliensis*. وبالتالي، يظهر المستخلص الإيثانولي من *Melissa officinalis* خصائص مضادة للأكسدة وفطرية بارزة، دون أن يظهر أي نشاط مضاد للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية : *Melissa officinalis* النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للميكروبات ، المستقلبات الثانية

Liste des figures

Figure 1 : Plant de <i>Melissa officinalis</i> L.....	6
Figure 2 : Mélisse officinale (<i>Melissa officinalis</i>).....	7
Figure 3 :Structure chimique des principaux constituants de l'HE de la mélisse.....	10
Figure 4 : La composition de <i>Melissa officinalis</i> et ses effets pharmacologique.....	12
Figure 5 : Différentes formes d'espèces réactives de l'oxygène(ERO).....	17
Figure 6 : Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène.....	18
Figure 7 : Certaines pathologies résultant du stress oxydatif.....	19
Figure 8 : Les systèmes de défense contre les radicaux libres.....	21
Figure 9 : Structure des antioxydants naturels les plus connus.....	22
Figure 10 : Structure chimique de quelques antioxydants synthétiques	23
Figure 11 : Structure du DPPH avant et après la réaction avec un antioxydant.....	24
Figure 12 : Le principe de la mise en œuvre de l'antibiogramme.....	29
Figure 13 : Le protocole expérimental de cette étude.....	32
Figure 14 : La plante de <i>Melissa officinalis</i> L. Poussant à l'état spontanée à Hammam Melouan.....	33
Figure 15 : Séchage de la plante.....	34
Figure 16 : Filtration et évaporation de l'extrait éthanolique de la mélisse	35
Figure 17 : Protocole de dosage des phénols totaux.	38
Figure 19 : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	38
Figure 21 : Protocole de dosage des tannins condensés	39
Figure 23 : Réduction du radical DPPH	41
Figure 24 : Préparation des dilutions	41
Figure 25 : Repiquage des germes	43
Figure 26 : Évaluation de l'activité antibactérienne	45
Figure 27 : Evaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct.....	47
Figure 28 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique de <i>Melissa officinalis</i> et de l'acide ascorbique.....	54
Figure 29 : Zones d'inhibition de l'extrait de <i>Melissa officinalis</i> sur les souches bactériennes testées	57
Figure 30 : Effet de l'extrait éthanolique de <i>Melissa officinalis</i> sur la souche fongique <i>Aspergillus brasiliensis</i>	59

Liste des tableaux

Tableau 1 : Noms vernaculaires de la mélisse officinale.....	4
Tableau 2 : Position systématique de <i>Melissa officinalis</i> L.....	5
Tableau 3 : Coordonnées géographiques du site de récolte de <i>Melissa officinalis</i>	33
Tableau 4 : Liste des souches microbiennes testées	43
Tableau 5 : Liste des antibiotiques testés pour chaque souche bactérienne.	44
Tableau 6 : diamètres des zones d'inhibition selon le degré de sensibilité	45
Tableau 7 : Résultats du screening phytochimique de la plante <i>M.officinalis</i>	50
Tableau 8 : Teneurs en métabolites secondaires de l'extrait éthanolique de la mélisse.....	51
Tableau 9 : Analyse de la variance "ANOVA" à un facteur de l'extrait sur la teneur en métabolites secondaires.....	54
Tableau 10 : Les IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait éthanolique testés.....	55
Tableau 11 : Diamètre de la zone d'inhibition en mm pour les souches bactériennes testées avec l'extrait éthanolique, le DMSO et les antibiotiques.....	55

Liste des abréviations

Abs: Absorbance

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

ANOVA: Analyse de la variance

ATCC: American Type Culture Cells

C₄H₆O₃: Acide d'anhydride acétique

CHCl₃: Chlorotorm

C150: Concentration inhibitrice à 50%.

DMSO: Diméthylesulfoxyde

DPPH: 2.2-diphényl-1-picrylhydrazyle

FeCl₃: Chlorure de Fer

H₂SO₄: Acide Sulfurique

HCl: Acide chlorhydrique

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

NaOH: Hydroxyde de sodium

Nm: Nanomètre

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Partie 1 : Synthèse Bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur la plante étudiée	
1.Histoire.....	3
2.Nomenclature	4
3.Caractéristique botanique.....	5
3.1. Classification botanique.....	5
3.2.Description de la plante	5
3.3. Habitat et culture.....	8
4. Composition phytochimique et principes actifs	9
4.1. L'huile essentielle de la mélisse	9
4.2. Polyphénols	10
4.2.1. Acides phénoliques	10
4.2.2. Flavonoïdes.....	11
4.2.3. Triterpènes.....	12
4.2.4. Autres composés minoritaires.....	12
5. Utilisation de la mélisse.....	13
5.1 Domaine thérapeutique.....	13
5.2 Domaine culinaire.....	13
5.3 Domaine agricole.....	14
5.4 Domaine industriel	14
5.4.1. En cosmétologie et pharmacie.....	14
5.4.2. En agro-alimentaire.....	15
Chapitre II : Activités biologiques étudiées	
1.Activité antioxydante	16
1.1.Définition	16
1.2. Stress oxydatif	16
1.2. 1.Définition du stress oxydatif	16
1.2. 2. Les espèces oxygénées réactives (EOR)	16
1.2. 3. Le stress oxydatif et son effet sur l'organisme.....	17
1.3.Les radicaux libres	19
1.3.1.Les principaux radicaux libres.....	19
1.3.2. Origine des radicaux.....	20
1.4. Les antioxydants.....	20
1.4.1. Définition.....	20
1.4.1. Classification des antioxydants.....	21
1.5.Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante in vitro.....	23
1.5.1. Test de réduction du radical stable DPPH.....	23
1.6. Effet antioxydant de la mélisse officinale.....	24
2.Activité antimicrobienne.....	25

2.1. Les principales substances antimicrobiennes.....	26
2.2. Les souches microbiennes utilisées dans les tests antimicrobiennes.....	27
2.2.1. <i>Escherichia coli</i>	27
2.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27
2.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	28
2.2.4. <i>Aspergillus brasiliensis</i>	28
2.3. Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne	28
2.3.1. Méthode de la diffusion en disque (Antibiogramme)	28
2.3.2. Méthodes de dilutions en bouillon et gélose	29
2.4. Effet antimicrobien de la mélisse officinale	30

Partie 2 : Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel	33
1.1. Appareils et produits chimiques	33
1.2. Matériel végétal.....	33
2. Méthodes d'étude	34
2.1. Séchage et broyage	34
2.2. Préparation de l'extrait éthanolique.....	34
2.3. Etude phytochimique	35
2.3.1. Screening phytochimique.....	35
2.3.2. Caractérisation quantitative de l'extrait.....	37
2.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le test (DPPH).....	40
2.5.1. Activité antibactérienne	41
2.5.1.1 Souches bactériennes testées	41
2.5.1.2. Milieux de cultures utilisées.....	43
2.5.1.3. Repiquage des germes	43
2.5.1.4. Préparation de l'inoculum bactérien.....	44
2.5.1.5. Ensemencement et dépôt des disques.....	44
2.5.5.3. Lecture et expression des résultats.....	45
2.6. Activité antifongique.....	46
2.6.1. Repiquage et préparation de l'inoculum fongique.....	46
2.6.2. Ensemencement des champignons.....	46
2.6.2. Lecture des résultats.....	47

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Rendement d'extraction	49
2. Screening phytochimique	49
3. Teneurs en métabolites secondaires	51
4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	54
5. Evaluation de l'activité antibactérienne	57
6. Evaluation de l'activité antifongique	59
Conclusion et perspectives	61
Références bibliographiques	63
Annexe	

Introduction

Depuis l'Antiquité, l'homme a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement, y compris les plantes médicinales et aromatiques, pour se nourrir, se soigner et se parfumer, souvent sans connaître pleinement les propriétés de ces plantes. De nos jours, l'efficacité de la médecine par les plantes est reconnue et démontrée scientifiquement, et leurs bienfaits incontestables pour notre santé ont permis à la phytothérapie d'intégrer notre vie quotidienne (**Guebailia, 2007**). Selon l'Organisation mondiale de la santé, environ 65 à 80 % de la population mondiale vivant dans les pays en développement dépend de la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins médicaux et de premiers secours (**Haddouchi et al., 2016**).

Les plantes médicinales sont à l'origine de nombreux médicaments actuels, fournissant d'une part la matière première, et d'autre part, servant de modèles pour la synthèse de molécules thérapeutiques. Elles représentent une source inépuisable et renouvelable de principes actifs, dont l'usage traditionnel et médical est bien établi depuis longtemps (**Iserin, 1997**). Avec les progrès de la recherche scientifique, la science reconnaît et confirme les diverses vertus des plantes et de leurs huiles essentielles, qui trouvent des applications variées dans les industries pharmaceutique, cosmétique, parfumerie, agroalimentaire et des additifs (**Bruneton, 1999 ; Verma et Sharma, 2021**).

En Algérie, la médecine par les plantes est profondément ancrée dans la culture, grâce à une flore particulièrement riche et diversifiée, comprenant des centaines d'espèces végétales aux propriétés médicinales (**Boudjema et al., 2021**).

Parmi ces nombreuses plantes, notre étude s'est portée sur *Melissa officinalis* L., connue sous les noms de Ferzizoua ou Trandjan, appartenant à la famille des Lamiaceae et principalement localisée au nord du pays. Employée dans la médecine traditionnelle, cette espèce présente un large spectre d'activités biologiques grâce à ses propriétés sédatives, carminatives, antispasmodiques et antivirales. Son huile essentielle démontre des activités antibactériennes, antiparasitaires, anti-inflammatoires et antifongiques (**Ehsani et al., 2017 ; El Ouadi et al., 2017 ; Araújo et al., 2019**).

Malgré son intérêt pharmacologique, cosmétique et industriel, la mélisse reste peu exploitée en Algérie. Dans ce contexte, ce travail vise à mettre en évidence la présence de certains types de métabolites secondaires et à évaluer quelques activités biologiques de l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* L., afin de déterminer ses potentiels pharmacologiques, y compris ses activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques.

Introduction

Cette étude se divise en trois parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur la plante choisie, les composés phénoliques, le stress oxydatif, ainsi qu'un aperçu général sur l'activité antimicrobienne.
- La seconde partie du manuscrit porte sur la partie expérimentale, notamment :
 - L'extraction, le screening phytochimique et le dosage des métabolites secondaires.
 - L'évaluation in vitro de l'activité antioxydante, antibactérienne et antifongique.
- Enfin, la troisième partie présente les principaux résultats obtenus, leur discussion, ainsi qu'une conclusion générale et les perspectives.

Partie 1:

Synthèse bibliographique

1. Histoire et tradition

La mélisse est connue depuis plus de 2000 ans. Elle était traditionnellement utilisée par les Grecs et les Romains pour ses vertus culinaires et médicinales, notamment contre les troubles du système nerveux (**Grünwald et Jänicke, 2006**). Cette plante aromatique, médicinale, mellifère et condimentaire ressemble à la menthe, avec laquelle on la confond souvent (**Jorek, 1983 ; Bartels, 1998 ; Bardeau, 2009**).

Depuis l'Antiquité, la mélisse est connue et appréciée en tant que plante médicinale en Europe et au Moyen-Orient. Le médecin persan Avicenne (980-1037) recommandait la mélisse pour stimuler le fonctionnement cardiaque. De plus, le grand médecin suisse Paracelse (1493-1541) la considérait comme un cardiotonique très efficace (**Teuscher et al., 2005**). Il s'intéressait à l'extraction de substances actives de cette plante et préparait des boissons toniques appelées « élixir de la vie » (**Babulka, 2005**). L'écrivain anglais John Evelyn (1620-1706) a décrit la mélisse comme une plante qui structure le cerveau, renforce la santé mentale et supprime la mélancolie (**Penchev, 2010**). En Angleterre, il est rapporté qu'un homme nommé John Hussey, qui buvait chaque matin une tasse de tisane de mélisse citronnelle avec du miel, aurait atteint l'âge mémorable de 116 ans (**Speck, Ursula et Fotsch, 2009**).

La mélisse a été introduite en France au Moyen Âge, au début du XVII^e siècle, par les carmes déchaussés de la rue de Vaugirard à Paris, qui ont composé la célèbre « eau de mélisse », également connue sous le nom d'« eau des Carmes ». Cette préparation a rendu la mélisse officinale célèbre et très populaire en tant qu'antispasmodique (**Salle, 1991**). Les médecins arabes ont également vanté les vertus antispasmodiques de la mélisse (**Schauenberg et Paris, 1977**).

Depuis, de nombreuses études ont été réalisées sur la mélisse, notamment en 1978 en Allemagne, où les propriétés antivirales de la plante ont été mises en évidence et confirmées par des recherches menées dans les années 1990 sur le virus de l'herpès (**Roux, 2005**).

Selon la littérature, la mélisse est une plante qui a traversé les siècles sans déclin. Elle est récemment introduite en phytothérapie moderne avec l'utilisation de ses extraits présentant des propriétés spécifiques. Cependant, elle conserve ses propriétés traditionnelles lorsqu'elle est préparée en tisane ou associée à d'autres plantes (**Babulka, 2005**). En effet, des études récentes ont prouvé l'efficacité antitumorale de la mélisse officinale sur plusieurs types de cancer, notamment les cancers du poumon, du sein, de la prostate, du côlon et du col de

Chapitre I : Généralités sur la plante étudiée

l'utérus, ce qui suggère qu'elle peut être utilisée pour traiter les cellules cancéreuses (**Faraji et al., 2021**).

2. Nomenclature

La mélisse officinale, dont le nom scientifique est *Melissa officinalis* L., tire son étymologie du nom grec Meleia (meli, melitos = miel). En grec, Melissa signifie « abeille », faisant référence à son nectar recherché par les abeilles (**Bianchini et Corbetta, 1975**).

Le terme *officinalis* a été donné pour la première fois par Carl Von Linné (1707-1778). Ce terme a été mentionné dans la pharmacopée française en 1733, et l'utilisation du mot officine, qui signifie en français « pharmacie », lui a été attribuée pour la première fois en 1812 (**Penchev, 2010**). Sa popularité lui a valu différentes appellations vernaculaires dans différentes langues (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Noms vernaculaires de la mélisse officinale

Langue	Noms vernaculaires	Auteurs
Arabe et Berbère	Badarendjouya, Ferzizou, Tifer n't zizoua, Tournadjan, Tizizouit, Touroundjan, Tindjan, Iferzizwi ou Taneqilet merzizua Merzazou, mélissa, tronjan.	(Baba Aissa, 1999 ; Beloued 2001 Aït Youssef, 2006) Certains herboristes
Français	Citronnelle ou citronnade, Thé de France, Piment des abeilles ou des ruches, Céline, herbe au citron, poincirade	(Couplan et Styner, 1994 ; Beloued, 2001 ; Bock, 2010 ; Girre, 2001) (Wichtl et Anton, 2003, Bourgeois, 2007)
Anglais	Lemon balm, Common Balm, Sweet balm , <i>Cure-all</i> .	(Bock, 2010)
Italie Espagne Pays-bas Allemagne	Cedronella, Citronella, Melissa vera. Melisa, Melissa, Tarongina, Toronjil. Citroenmelisse Zitronen-Melisse ; <i>Melissenblätter</i> , <i>Zitronenkraut</i> ou <i>Zitronenmelisse</i>	(Bock, 2010) (Perrot et Paris, 1971)

3. Caractéristique botanique

3.1. Classification botanique

La place de la mélisse dans la classification phylogénétique **APG III(2009)** est présentée dans le tableau suivant.

Tableau 2 : Position systématique de *Melissa officinalis* L.

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-Règne	Tracheobionta
Division	Spermatophyta
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Angiospermes (<i>Magnoliophyta</i>)
Classe:	Eudicotyledones
Sous classe:	Astéridées
Ordre:	Lamiales
Famille:	Lamiacées
Genre:	<i>Melissa</i>
Genre et Espèce:	<i>M.officinalis</i> L.

Il existe trois sous-espèces : *officinalis*, *inodora* et *altissima* (**Sari et Ceylan, 2002 ; Teuscher, et al, 2005**) mais c'est la sous-espèce *officinalis* qui est utilisée en thérapeutique (**Carnat et al., 1998**).

3.2. Description de la plante

La mélisse est une plante vivace herbacée de la famille des Lamiacées (**figure.1**), atteignant une hauteur de 30 à 80 cm, avec un port ressemblant à celui de la menthe et des feuilles vert vif dégageant une forte odeur citronnée (**Pineau, 2012 ; Alloun, 2019**). Elle se caractérise par des racines grêles, cylindriques et fibreuses. Cette plante forme des touffes touffues et robustes, se ramifiant abondamment (**Bardeau, 2009 ; Botineau, 2011**).

Son rhizome court porte de nombreux bourgeons adventifs, contribuant à sa propagation. La mélisse est recouverte de poils doux et épais, lui conférant une texture

rugueuse, et elle dégage un parfum citronné prononcé. Son goût est chaud, aromatique et légèrement amer (Feknous, 2018).



Figure 1 : a) Plant de *Melissa officinalis* L. b) Plants de *M. officinalis* poussant à l'état spontané à Hammam Mélouane

-La tige :

Elle est caractérisée par sa forme dressée et quadrangulaire, une caractéristique typique des Lamiacées. Elle peut être plus ou moins velue, avec peu de ramification à la base mais une ramification importante dans les parties supérieures lors de la floraison. Les rameaux supérieurs sont bien développés et portent des fleurs, tandis que les rameaux inférieurs sont courts et dépourvus de fleurs (Ronat, 2001). Les tiges sont généralement rameuses, velues vers le sommet et près des nœuds, mais glabres sur le reste de leur longueur. Elles peuvent atteindre jusqu'à 90 cm de hauteur (Baba Aissa, 1999; Girre, 2001 ; Teuscher *et al.*, 2005).

-La feuille

Les feuilles de la mélisse sont simples, opposées, ovales, parfois légèrement cordiformes, et pétiolées. Elles sont largement dentées en scie, avec une nervation réticulée, mesurant généralement de 5 à 8 cm sur 4 à 5 cm. La face supérieure des feuilles est d'un vert vif foncé et rugueuse au toucher en raison de la présence de poils tecteurs fins et courts de couleur blanche. Les nervures sont saillantes sur la face inférieure, qui est beaucoup plus pâle et glabre, formant un réseau entre les branches duquel le limbe est soulevé, donnant à la face inférieure un aspect gaufré caractéristique. Les feuilles des rameaux axillaires sont plus petites

et dégagent un parfum doux et citronné lorsqu'elles sont froissées (**Bianchini et Corbetta, 1975 ; Ronat, 2001**).

-La fleur

Les fleurs sont réunies par 3 à 12 en glomérules axillaires en verticilles (**figure 2c**), à la base des feuilles. De couleur blanche à rosée, elles sont formées d'une corolle tubulaire (**figure 2b**) constituée de deux lèvres inégales. La lèvre supérieure est dressée (**Perrot et Paris, 1971**) et celle inférieure est divisée en trois lobes. Quatre étamines didynames (**figure 2d**) s'insèrent sur le tube formé par la corolle, elles sont courbées et tendent ainsi les unes vers les autres. Le pistil, quant à lui, est constitué de quatre loges et possède un long style terminé par un stigmate. Le calice (**figure 2e**) est bilabié et pubescent (**Wichtl et Anton, 2003**).

-Le fruit

C'est un tétrakène à odeur aromatique, il contient quatre minuscules graines luisantes de couleur brun foncé (**Pineau, 2012**).

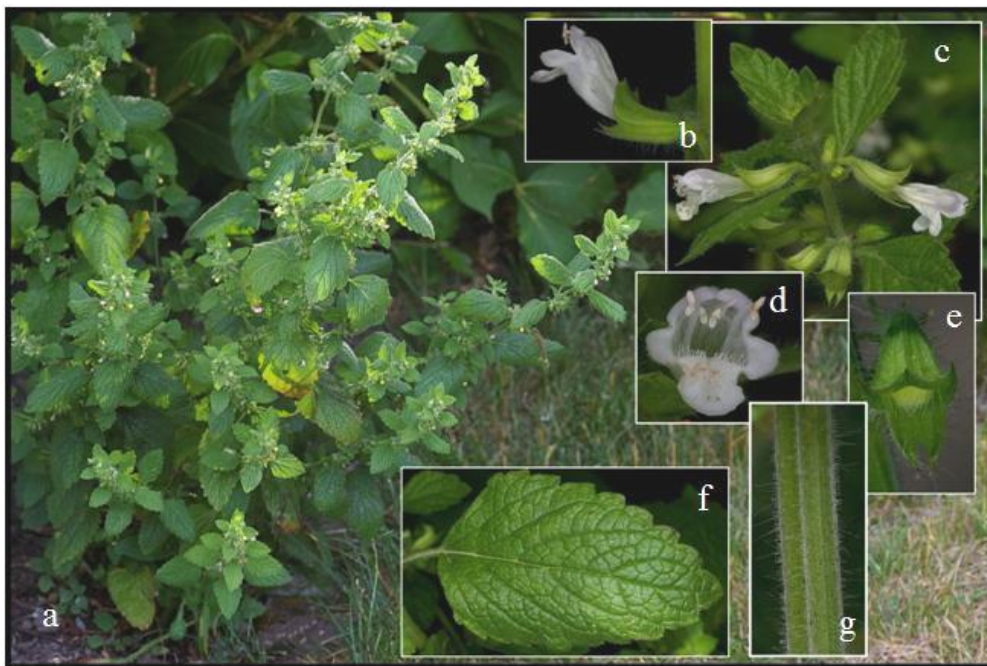


Figure 2 : Mélisse officinale (*Melissa officinalis*) (Pineau, 2012)

a : plante entière ; **b** : fleur zygomorphe ; **c** : fleurs disposées en verticilles à la base des feuilles ; **d** : quatre étamines ; **e** : calice bilabié et pubescent ; **f** : feuille ; **g** : tige carrée.

3.3. Habitat et culture

La mélisse, un sous-arbrisseau vivace en touffes originaire d'Europe méridionale, d'Asie occidentale et d'Afrique du Nord, pousse désormais dans le monde entier (**Sari et Ceylan, 2002 ; Petrisor et al., 2022**). Bien que rarement spontanée, elle se trouve à l'état spontané dans les broussailles mi-ombragées jusqu'à 1000 mètres d'altitude, souvent dans des endroits où poussent les orties (**Bardin, 2004 ; Polese, 2006**). Elle est fréquente dans les endroits incultes le long des haies, dans les bois, sur les bermes des routes, dans les terrains vagues et aux abords des habitations (**Bianchini et Corbetta, 1975 ; Boullard, 2001**). La mélisse croît à l'état subspontané dans presque toute la France, particulièrement dans les lieux frais du Midi, dans les Alpes, les Pyrénées et même dans les environs de Paris (**Bagdat et Cosge, 2006**). Elle se rencontre également dans le sud de l'Allemagne, en Europe occidentale, particulièrement en Espagne, ainsi qu'en Amérique du Nord.

Dans l'Atlas marocain, notamment dans la région d'Agadir, la mélisse pousse de manière spontanée. On la trouve aussi en Tunisie.

En Algérie, la mélisse est cultivée dans les régions de la Kabylie, mais elle est également spontanée dans les montagnes du Tell, où elle était signalée comme assez rare jusqu'en 1962. On l'observe dans les ravins humides des montagnes de Babors, du Djurdjura et de l'Atlas Blidéen, ainsi que dans les décombres, les endroits frais, les forêts et aux alentours des maisons (**Feknous, 2018**).

M.officinalis L. pousse sur presque tous types de sols, sauf les plus humides, et peut devenir envahissante en sols légers et fertiles. Elle préfère un sol bien drainé, sablonneux ou argileux, riche en humus, et une exposition ensoleillée. Bien qu'elle puisse tolérer des endroits ombragés, cela réduit sa teneur en huile essentielle (**Teuscher et al., 2005**). La culture de la mélisse demande un sol profond et riche en éléments nutritifs, ainsi qu'une exposition ensoleillée et abritée.

La multiplication se fait par semis printaniers, par boutures, ou par division du rhizome, et la plante se ressème souvent seule. Sensible au gel, la mélisse doit être protégée en hiver et est vulnérable à la rouille des feuilles (*Septoria melissae* Deson) et aux attaques d'escargots. Les parties aériennes se cueillent au début de l'été, juste avant la floraison (**Gilly, 2005 ; Feknous, 2018**).

4. Composition phytochimique et principes actifs

La mélisse a fait l'objet de plusieurs études chimiques dans le but d'identifier ses principes actifs, notamment son huile essentielle et les polyphénols qu'elle contient. Ces études ont révélé que les parties aériennes renferment de nombreux constituants appartenant aux métabolites secondaires et primaires, dont les teneurs varient selon les conditions géographiques et climatiques, ainsi que les méthodes d'étude utilisées (extraction et détection).

Des études chimiques sur la composition de *Melissa officinalis* ont révélé qu'elle contient principalement des flavonoïdes, des terpénoïdes, des acides phénoliques, des tanins et de l'huile essentielle (Zarei *et al.*, 2014). Les principaux constituants actifs (**figure.4**) sont des composés volatils (géraniol, néral, citronellal et géraniol), des triterpènes (acides ursolique et oléanolique), des composés phénoliques (acides rosmarinique, caféique et protocatéchique), des flavonoïdes (quercétine, rhamnocitrin, lutéoline), des composés phytostéroliques (β -sitostérol et stigmastérol) et des composés polycycliques (iridoïdes et coumarines) (Shakeri *et al.*, 2016 ; Miraj *et al.*, 2017 ; Kittler *et al.*, 2018 ; Petrisor *et al.*, 2022).

4.1. L'huile essentielle de la mélisse

L'huile essentielle, obtenue par distillation à la vapeur d'eau ou extraction chimique des fleurs, feuilles et branches fraîches ou séchées, est caractérisée par une odeur de citron frais et une couleur jaune clair (Bagdat et Cosge, 2006). Elle est souvent considérée comme le principal agent thérapeutique. Ses principaux composants sont le citronellal, le citral, le linalol, le géraniol, le néral, le caryophyllène et le β -pinène (Abdellatif *et al.*, 2014 ; Shakeri *et al.*, 2016). La teneur de la mélisse en HE varie de 0,05 à 0,3 %. Elle renferme majoritairement du citral (mélange de géraniol = citral a et de néral = citral b) et du citronellal. Ces deux terpènes sont responsables de l'odeur et de la saveur de la mélisse.

Elle renferme également d'autres constituants minoritaires : β -caryophyllène dont la teneur peut atteindre jusqu'à 28% et au cours de la conservation elle se transforme en époxydes de β -caryophyllène I et II, germacrène D (jusqu'à 15%, mais pouvant aussi être absent), 6-méthylhept-5-ène-2-one (jusqu'à 9%), acétate de géraniol (jusqu'à 6%), α -copaène (jusqu'à 5%), nérol (jusqu'à 5%), méthylcitronellal (jusqu'à 5%, mais pouvant être absent) et géraniol(**figure.3**).

L'HE renferme également des composés volatils présents sous formes hétérosidiques comme des glycosides de citronellole, de phényléthanol, d'eugénol, de benzylalcool et d'oct-1-én-3-ol (Wichlt et Anton, 2003 ; Teuscher *et al.*, 2005).

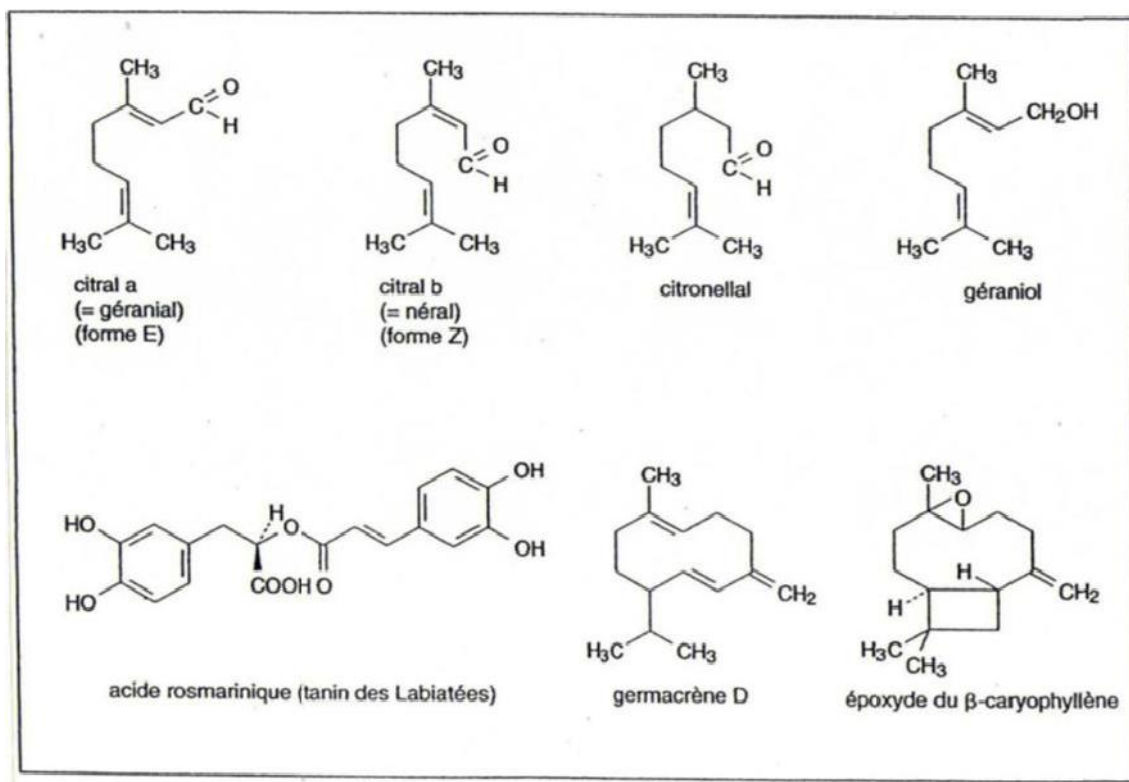


Figure 3: Structure chimique des principaux constituants de l'HE de la mélisse (Wichlt et Anton, 2003).

4.2. Polyphénols :

Les polyphénols, ou composés phénoliques, constituent une vaste famille de molécules présentes dans le règne végétal, produits du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont hydrosolubles lorsqu'ils sont sous forme d'hétérosides (Yusuf, 2006). Leur biosynthèse résulte de la condensation de l'acétyl-coenzyme A et de la phénylalanine, produisant une grande diversité de molécules spécifiques à certaines espèces, organes ou tissus (Nkhili, 2009). Les principales sous-classes incluent les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines et les tanins (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

4.2.1. Acides phénoliques

Un acide phénolique (ou acide-phénol) est un composé organique polaire constitué d'au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Dans le monde végétal, ce terme désigne les dérivés cinnamiques (C6-C3) et les dérivés benzoïques (C6-C1). L'acide rosmarinique, comme son nom l'indique, a été isolé et identifié pour la première fois à partir du romarin (*Rosmarinus officinalis*) par Pereira *et al.* (2005). Pourtant, il est présent en plus grande quantité dans les feuilles de mélisse, où sa concentration est de 3,9% contre 2,5% dans le romarin (Geller *et al.*, 2010).

Sa teneur peut toutefois atteindre les 4,7 % (**Gruenwald et al., 2007**). L'acide rosmarinique est un ester de l'acide caféique et de l'acide 3,4-hydroxyphényllactique (**Pereira et al., 2005**). C'est une molécule polaire (ce qui explique sa solubilité dans l'eau et l'éthanol). Il est présent chez les Lamiacées, les Borraginacées et les Apiacées (**Penchev, 2010**) et est supposé participer aux mécanismes de défense de la plante (**Petersen et Simmonds, 2003**).

Ils peuvent être extraits par les solvants organiques en milieu légèrement acide. Les acides phénols sont des molécules instables qui ont tendance à s'oxyder, notamment en milieu alcalin (**Bruneton, 2009**).

La Pharmacopée française (10^{ème} édit.) indique que les feuilles de sèches de *M officinalis* doivent contenir au minimum 5 % de dérivés hydroxycinnamiques totaux, exprimés en acide rosmarinique. Les acides-phénols sont très communs. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés. Les dérivés de l'acide hydroxycinnamique sont appelés aussi tanins de lamiacées. Leur teneur au niveau de la mélisse peut atteindre jusqu'à 7 %. Ils renferment l'acide rosmarinique, les acides caféique et chlorogénique, le 2-(3',4'- dihydroxyphényl)-1,3-benzodioxol-5-aldéhyde et les acides mélitriques A et B (trimères de l'acide caféique) (**Teuscher et al., 2005**). Les acides phénoliques sont des constituants bioactifs importants de *Melissa officinalis*, incluant les acides rosmarinique, caféique, chlorogénique et férulique. Selon les profils phénoliques des trois types d'extraits étudiés par **Ghiulai et al. (2020)** l'acide rosmarinique a été obtenu en plus grande quantité (86,637µg/g). L'extraction par sonication avec du méthanol a favorisé l'extraction de tous les composés phénoliques recherchés. Ainsi, la technique d'extraction influence la concentration des composés, certains étant présents en grande quantité tandis que d'autres peuvent ne pas être détectés.

4.2.2. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al., 2006**), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. l'état naturelles flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001**).

La teneur de la mélisse en flavonoïdes se situe entre 0,2 % et 0,7 % (**Bruneton, 2009**). Il s'agit des hétérosides de lutéoline, d'apigénine, de quercétine, de kaempférol, comme le lutéoline-3'-glucuronide, le cynaroside (lutéoline-7-O- glucoside), l'isoquercitrin (quercétine-3-O-glucoside), la cosmosiine (apigénine-7-O-glucoside) ainsi que l-rahmnazine (3,7-diméthoxykaempférol) et le 7-méthoxykaempférol (**Feknous, 2018**).

4.2.3. Triterpènes

Les triterpènes sont des composés en C30 issus de la cyclisation du squalène ou de l'époxysqualène. Ils possèdent le plus souvent une fonction oxygénée en 3. Ce sont des molécules fortement lipophiles, propres au monde végétal (Bruneton, 2009), tandis que les stéroïdes qui en dérivent sont communs aux deux règnes. L'acide ursolique et l'acide oléanolique sont des triterpènes contenus dans les feuilles de mélisse (Bruneton, 2009). Ce sont deux isomères largement répandus dans le monde végétal (Liu, 1995).

4.2.4. Autres composés minoritaires

Les feuilles de mélisse possèdent également des tanins catéchiques qui correspondent aux proanthocyanidols. Ils possèdent des propriétés sur l'éréthisme cardiaque (Thoby, 2009). Comme beaucoup de plantes, la mélisse contient des vitamines, notamment B1 et B2 (Thoby, 2009), de la chlorophylle, des cires et des stérols, ainsi que de l'acide succinique (Penchev, 2010). Une étude menée par Ashori *et al.* (2011) a analysé la composition chimique de la tige de *Melissa officinalis*, révélant une teneur élevée en alpha-cellulose et faible en lignine. Komes *et al.* (2011) ont rapporté la présence de tanins, d'acides phénoliques et de flavonoïdes dans des extraits non hydrolysés et hydrolysés de diverses plantes, y compris *Melissa officinalis*. Dias *et al.* (2012) ont comparé deux échantillons commerciaux, un échantillon de culture in vitro et un échantillon de culture normale, et ont observé que les échantillons de culture in vitro contenaient les niveaux les plus élevés de protéines et de cendres, tandis que les échantillons commerciaux granuleux avaient les niveaux les plus élevés de glucides.

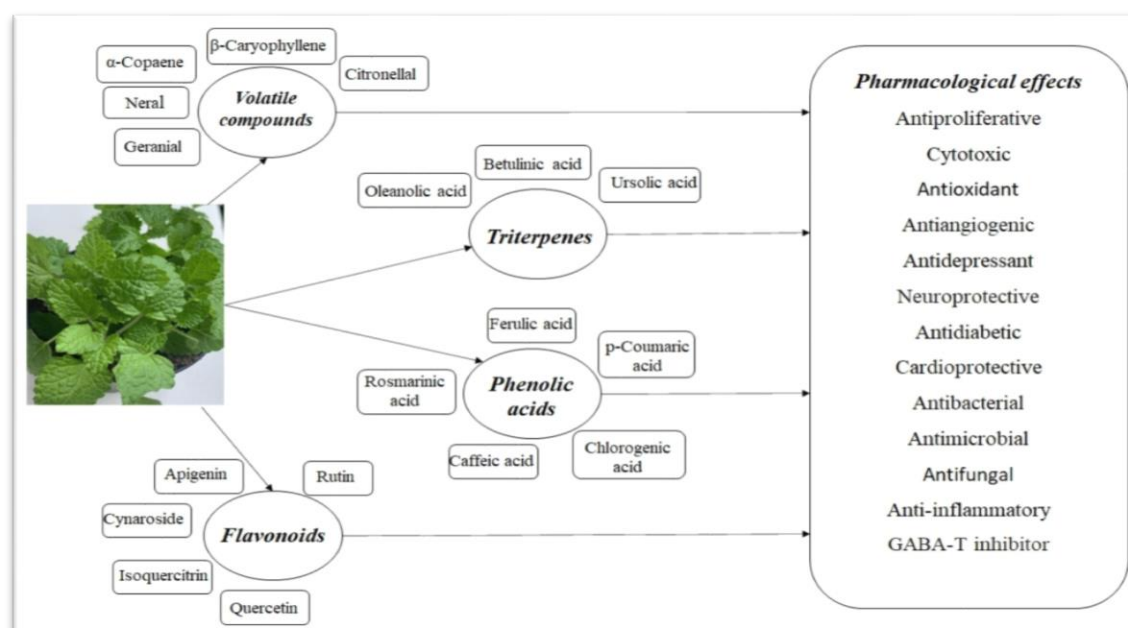


Figure 4 : La composition de *Melissa officinalis* et ses effets pharmacologiques (Petrisor *et al.*, 2022)

5. Utilisation de la mélisse :

La mélisse officinale est utilisée dans plusieurs domaines thérapeutiques, culinaires, agricoles et industriels.

5.1 Domaine thérapeutique :

La mélisse (*Melissa officinalis* L.) est largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés relaxantes et sédatives, surtout en cas d'anxiété, de dépression légère, de nervosité et d'irritabilité. Elle est également indiquée pour apaiser les palpitations cardiaques d'origine nerveuse et les troubles digestifs liés à l'anxiété (Iserin, 1997 ; Cases *et al.*, 2011). Sous forme de jus ou de thé, elle calme les céphalées, troubles gastro-intestinaux, asthme, bronchite, et améliore les insuffisances cardiaques. En usage externe, elle soulage les piqûres d'insectes et les douleurs rhumatismales (Pizzorno et Murray, 2006). La mélisse est souvent combinée à d'autres plantes pour ses effets thérapeutiques.

Des études cliniques montrent l'efficacité de l'association mélisse-passiflore dans le traitement de l'anxiété (Roux, 2005). La mélisse pourrait ralentir l'activité thyroïdienne et est donc déconseillée pour les personnes ayant une thyroïde hypoactive (Hosein et Rogers, 2005). Elle est également utilisée en aromathérapie pour ses propriétés analgésiques et bactériostatiques (Boullard, 2001). Les études se sont concentrées sur les extraits de feuilles, révélant des profils phénoliques corrélés à des effets antiprolifératifs (Encalada *et al.*, 2011), antiangiogéniques (Ghiulai *et al.*, 2020), antiviraux (Astani *et al.*, 2012 ; Astani *et al.*, 2014), antioxydants (Pereira *et al.*, 2009 ; Ehsani *et al.*, 2017), anxiolytiques (Ghazizadeh *et al.*, 2020), antidépresseurs (Ghazizadeh *et al.*, 2020), anti-Alzheimer (Gürbüz *et al.*, 2019), neuroprotecteurs (Bayat *et al.*, 2012), cardioprotecteurs (Sedighi *et al.*, 2019), antifongiques (El Ouali *et al.*, 2017 ; Araújo *et al.*, 2019) et antibactériens (Ehsani *et al.*, 2017). Récemment, une étude réalisée par Shamsavari *et al.* (2024) a signalé la mélisse comme un remède potentiel en cas de dyslipidémie. Les parties aériennes de la mélisse sont employées de multiples façons : infusion, teinture, lotion et onguent (Iserin, 1997).

5.2 Domaine culinaire :

La mélisse, fraîche ou séchée, se marie parfaitement avec les plats acides. Les feuilles fraîches, au parfum citronné, peuvent remplacer la menthe dans les ragoûts, les soupes froides et les boissons rafraîchissantes (Jorek, 1983). Selon Bartels (1998), elles sont idéales pour les salades de fruits, les compotes, les jus, le thé et les marmelades. Elles aromatisent également les gibiers, les poissons, les viandes et les volailles, ainsi que les sauces, les farces et les marinades. La mélisse ajoute une touche parfumée aux légumes cuits à la vapeur et aux desserts tels que les flans et le lait. Pour préserver son arôme, il est préférable d'ajouter les

feuilles en fin de cuisson. Dans la cuisine orientale, la mélisse est utilisée comme épice, et ses feuilles macérées dans du vinaigre sont parfaites pour les assaisonnements de salades. Elle s'invite également dans la pâtisserie aux agrumes, comme le citron et l'orange (**Kocherane, 2011**).

5.3 Domaine agricole :

La mélisse est effectivement une plante polyvalente avec de nombreuses applications dans l'apiculture et l'agriculture durable. Traditionnellement, les apiculteurs méditerranéens utilisaient la mélisse pour attirer et retenir les abeilles près de la ruche (**Bartels, 1998**). En agriculture, la mélisse est reconnue pour ses bienfaits comme plante compagne, aidant à attirer les insectes bénéfiques et à repousser les ravageurs, ce qui favorise la santé et la productivité des cultures avoisinantes.

De plus, l'huile essentielle de mélisse peut être utilisée comme pesticide et fongicide naturel, offrant une alternative écologique aux produits chimiques synthétiques. La mélisse a également un potentiel en tant que culture de rotation ou de couverture, améliorant la santé du sol et réduisant l'érosion grâce à sa forte production de biomasse et sa capacité d'adaptation à différents types de sol (**Greff et al., 2023**).

5.4 Domaine industriel :

5.4.1. En cosmétologie et pharmacie

La mélisse occupe une place non négligeable en aromathérapie mais aussi, en cosmétologie, son huile essentielle est très appréciée dans la parfumerie grâce à l'hydrosol qu'elle renferme (**Truelle, 2009**). Cette huile essentielle constitue un composant intéressant pour l'élaboration de divers produits de beauté et peut être utilisée dans les shampoings, crème de jour, ainsi que dans les lotions et produits de toilette pour le visage et le corps. De plus, la mélisse est un ingrédient clé dans la composition de multiples dentifrices et de bains de bouche, et elle entre également dans la composition des produits d'hygiène (**Roux et al., 2008**).

Par ailleurs, la pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale, trouvant chez les plantes des molécules actives nouvelles ou des matières premières pour la semi-synthèse (**Schnaubelt, 1998**). La mélisse est ainsi utilisée dans les ingrédients de plusieurs médicaments somnifères, de détente, et calmants, sous forme galénique de comprimés, gélules, crèmes à la mélisse et sachets pour la tisane, souvent fournis aux pharmaciens qui les conditionnent eux-mêmes (**Vidal, 2010**).

5.4.2. En agro-alimentaire

Dans l'industrie agro-alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une bonne qualité organoleptique. Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des huiles essentielles. L'activité antimicrobienne de la mélisse s'est avérée efficace pour inhiber la croissance des levures responsables de la détérioration des aliments (**Bagdat et Cosge, 2006**). Elle est aussi utilisée comme additif dans les aliments (**Adinee et al., 2008**).

1. Activité antioxydante

Ces dernières années, nous avons observé un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pourquoi les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Les antioxydants naturels sont souvent associés aux métabolites secondaires, ce qui en fait une alternative intéressante en raison de leurs propriétés thérapeutiques. De nombreuses études ont été menées sur l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plantes médicinales et de produits agroalimentaires.

1.1. Définition

L'activité antioxydante se réfère à la capacité d'une substance à inhiber ou neutraliser les effets des radicaux libres dans l'organisme. Les radicaux libres sont des molécules instables qui peuvent causer des dommages aux cellules, aux protéines et à l'ADN, contribuant ainsi au vieillissement et à diverses maladies, y compris le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (**Georgetti *et al.*, 2003; Halliwell et Gutteridge, 2015; Belaïch et Boujraf, 2016**).

1.2. Stress oxydatif

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant ». Il s'agit d'une situation où la cellule ne parvient plus à contrôler la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, une situation que les chercheurs associent à la plupart des maladies humaines (**Favier, 2003**).

1.2. 1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces oxygénées réactives (EOR) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd *et al.*, 2003**). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (**Morel et Barouki, 1999**).

1.2. 2. Les espèces oxygénées réactives (EOR)

L'appellation espèces oxygénées réactives (EOR) ou ROS (de l'anglais Reactive Oxygen Species) (**figure 5**) inclut les radicaux libres de l'oxygène (radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote), mais aussi certains dérivés réactifs non radicalaires dont la toxicité est plus importante, tels que le peroxyde d'hydrogène et le peroxydinitrite (**Bartosz, 2003; Halliwell et Whiteman, 2004**).

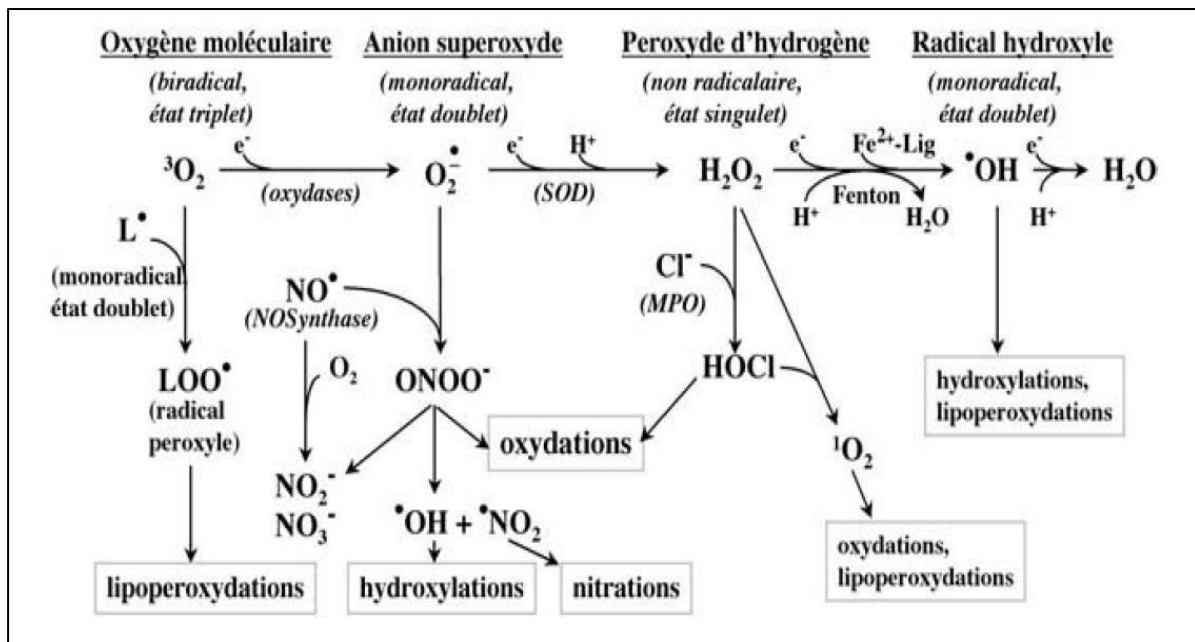


Figure 5 : Différentes formes d'espèces réactives de l'oxygène(ERO)
(Debydupont *et al.*, 2002)

1.2. 3. Le stress oxydatif et son effet sur l'organisme

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme (Beaudeau et Durand, 2011). Ce déséquilibre peut avoir diverses origines (figure 6), telles que l'exposition aux radiations (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique du sport intensif, et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante (Salah *et al.*, 1995; Guillouty, 2016).

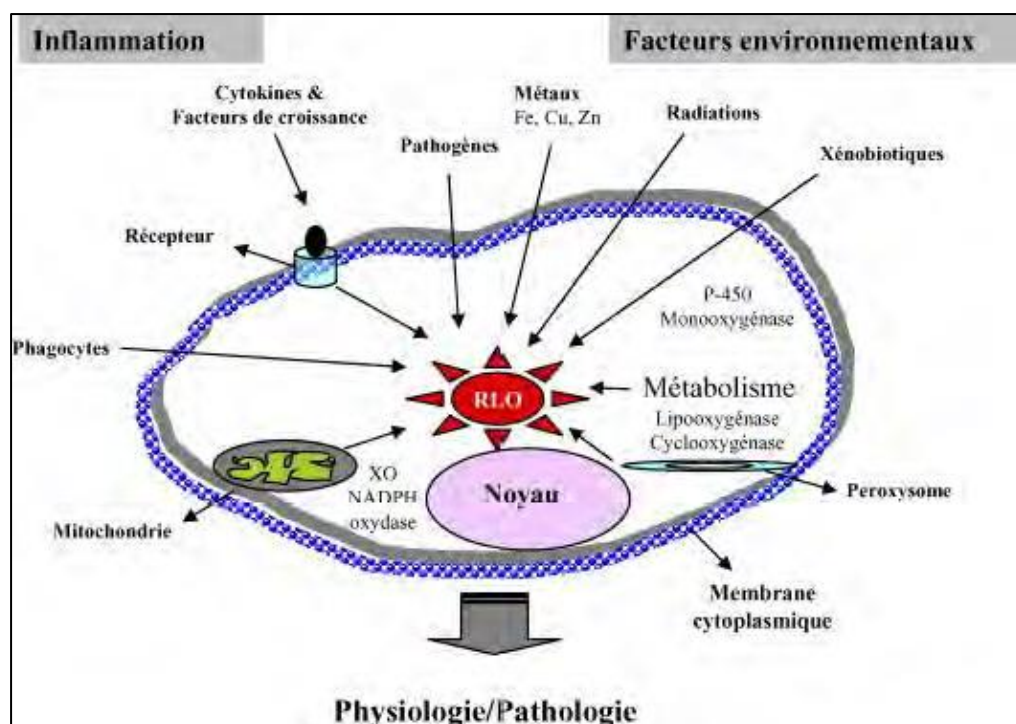


Figure 6: Origine extracellulaire et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso *et al.*, 2007)

La production d'espèces réactives de l'oxygène (EOR) est utile, mais peut être néfaste pour l'organisme en cas de production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. L'accumulation des EOR a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles. Les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides et l'acide désoxyribonucléique (Halliwell et Whiteman, 2004; Valko *et al.*, 2006). C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires et les maladies dégénératives, ainsi qu'un vieillissement prématuré (Georgetti *et al.*, 2003 ; Atawodi, 2005 ; Belaïch et Boujraf, 2016). Une des principales conséquences du stress oxydatif est la mort cellulaire programmée, ou apoptose (figure 7).

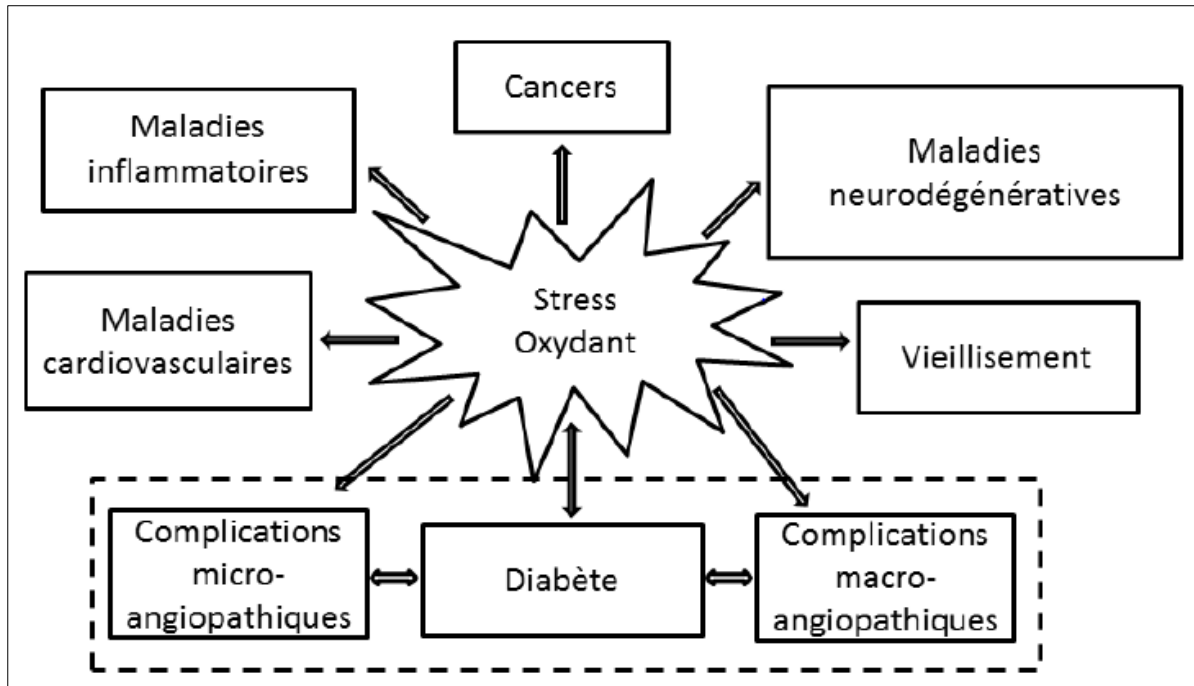


Figure 7 : Certaines pathologies résultant du stress oxydatif

1.3. Les radicaux libres

Par définition, les radicaux libres sont des entités chimiques possédant un électron non apparié, ou "célibataire", sur la couche périphérique du squelette moléculaire. Cet électron célibataire se forme suite à un apport d'énergie suffisant pour entraîner la rupture des liaisons entre les électrons (Servais, 2004). Les radicaux libres peuvent être des espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou des espèces réactives de l'azote (ERA) (Afonso *et al.*, 2007; Mac Laren, 2007). Dotés d'une forte réactivité, ils peuvent perturber les structures moléculaires en oxydant les lipides membranaires, les protéines cellulaires et les acides nucléiques, ce qui peut provoquer la mort cellulaire (Feknous, 2018). Ainsi, les radicaux libres participent également au fonctionnement de certaines enzymes, au cycle cellulaire, au fonctionnement de certains neurones, notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, et à la régulation des gènes (Favier, 2003).

1.3.1. Les principaux radicaux libres

➤ *L'anion superoxyde* : lorsque la molécule d'oxygène reçoit une quantité d'énergie suffisante, elle peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion agit comme un facteur oxydant dans de nombreuses réactions.



➤ *Le radical hydroxyle* : (**OH.**), il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.

➤ *Le radical peroxyde* : (**ROO.**)

L'oxygène singulet : (**O₂.**), forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (**Hadi, 2004 ; Alloun, 2019**).

1.3.2. Origine des radicaux

Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques pour détruire les bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telles que la mort cellulaire programmée, ou apoptose (**Favier, 2003**). Cependant, au contact de l'oxygène avec certaines protéines du système respiratoire, une production d'anions superoxyde se produit lors du fonctionnement de la chaîne mitochondriale.

L'inflammation est également une source importante de radicaux oxygénés, produits directement par les cellules phagocytaires activées. Le monoxyde d'azote est généré par les systèmes enzymatiques, notamment les différentes NO synthétases, pour médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages (**Favier, 2003**).

Les mécanismes des cycles redox, produits par l'oxydation de molécules comme les quinones dans l'organisme, sont une source importante de radicaux libres. Ce cycle redox se produit soit spontanément, soit principalement lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome P450. Les rayonnements peuvent générer des radicaux libres, et les particules inhalées (amiante, silice) sont également une source de radicaux libres (**Favier, 2003 ; Alloun, 2019**).

1.4. Les antioxydants

1.4.1. Définition

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'atténuer l'oxydation de ce substrat (**Antolovich et al., 2002**). Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydrosolubles ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique permet aux antioxydants de se trouver dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (**Sallouh et Nouioui, 2019**).

1.4.2. Classification des antioxydants

Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement des enzymes, telles que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase. En revanche, les antioxydants exogènes sont apportés de l'extérieur, par exemple par l'alimentation, et incluent des vitamines et des polyphénols (**Pincemail et al., 2002**). La classification de tous les antioxydants connus est complexe, mais ils sont généralement classés selon leur mécanisme d'action ou leur nature chimique. On distingue :

1. Selon leur cible et leur mécanisme d'action :

- **Antioxydants primaires** : Ceux qui préviennent la formation de radicaux libres en interrompant les chaînes de réactions oxydatives, comme illustré dans la **figure 8**. Ils incluent:
 - **Superoxyde dismutase (SOD)** : enzyme qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène.
 - **Catalase** : enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène.
 - **Glutathion peroxydase** : enzyme qui réduit les peroxydes lipidiques et le peroxyde d'hydrogène en utilisant le glutathion (**Huang et al., 2005**).
- **Antioxydants secondaires** : Ceux qui agissent en neutralisant les radicaux libres déjà formés ou en réparant les dommages causés par ces radicaux.

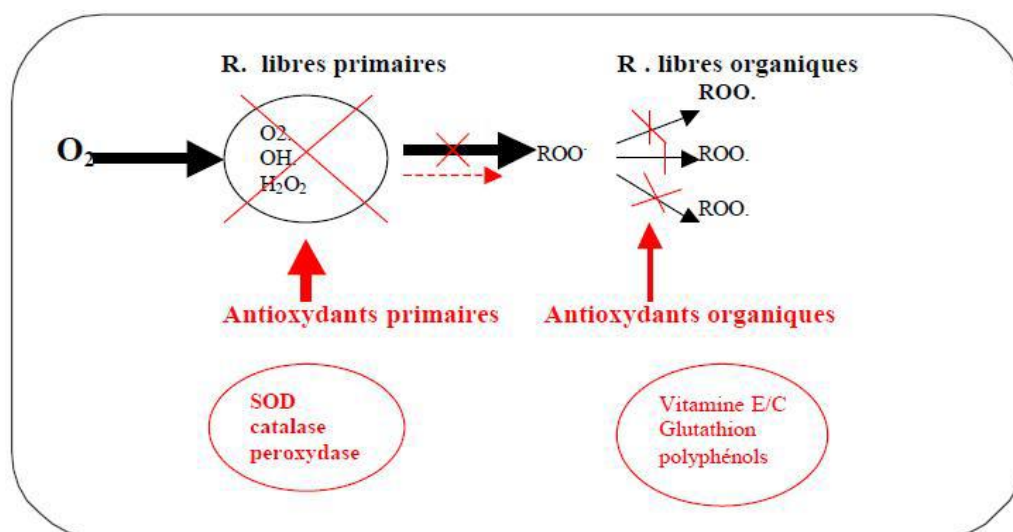


Figure 8 : Les systèmes de défense contre les radicaux libres (**Binov, 2001**)

2. Selon leur origine :

- **Antioxydants naturels** : Ceux qui sont synthétisés dans l'organisme, tels que les antioxydants enzymatiques, ou apportés par l'alimentation. Les antioxydants enzymatiques, comme le superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxidase et la glutathion réductase, sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les antioxydants apportés par l'alimentation (**figure 9**) incluent :

- **Acide ascorbique (vitamine C)**
- **Tocophérol (vitamine E)**
- **Caroténoïdes** tels que le β -carotène (provitamine A)
- **Composés phénoliques** tels que l'acide gallique

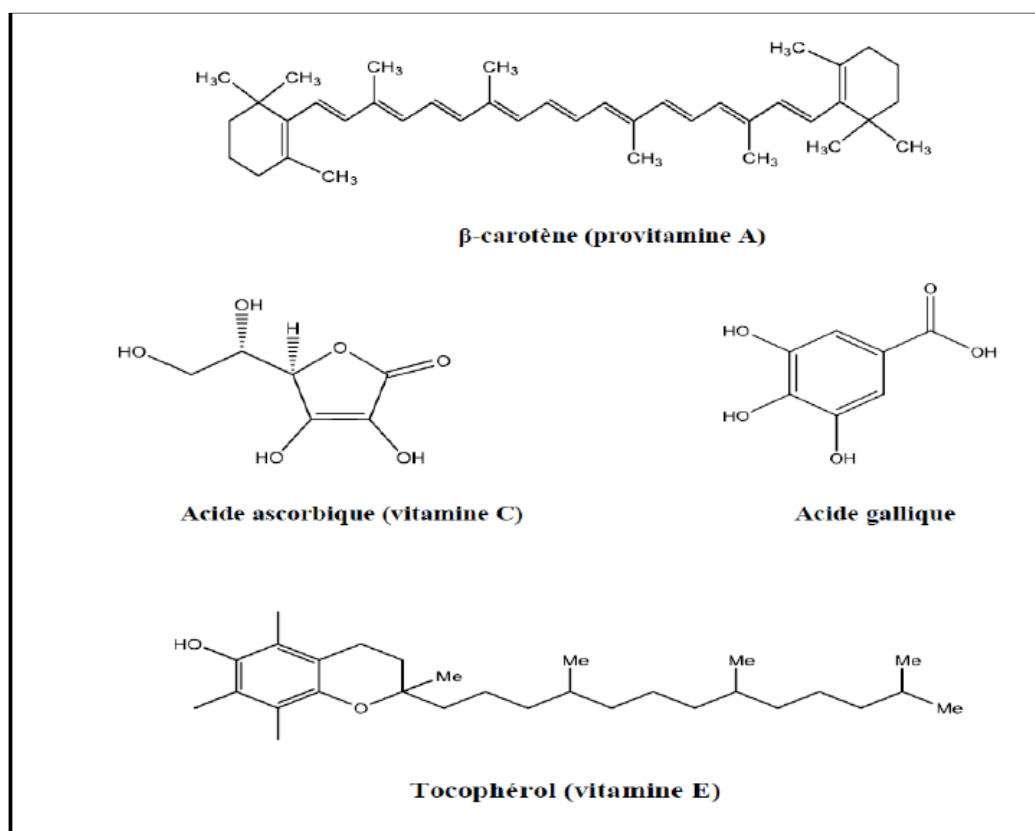


Figure 9 : Structure des antioxydants naturels les plus connus.

- **Antioxydants synthétiques** : Ceux qui sont produits par des procédés industriels (**Vergely et Rochette, 2003**), tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), le gallate propylé (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ). Ces antioxydants sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (**figure 10**).

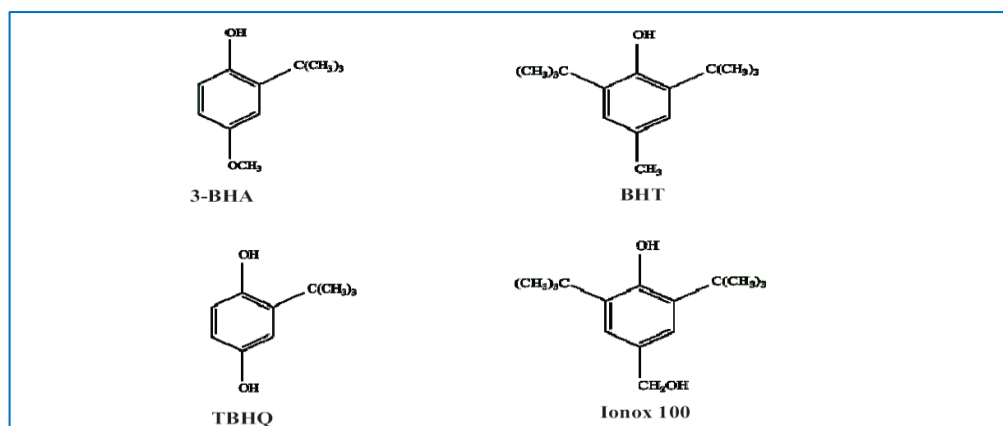


Figure 10 : Structure chimique de quelques antioxydants synthétiques (Kholkhal, 2014)

1.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

Ces dernières années, plusieurs méthodes de la détermination de l'activité antioxydant ont été proposées. La majorité de ces tests sont basés sur la mesure de la capacité relative des antioxydants à piéger les radicaux en comparant avec celle d'un antioxydant standard. Ces méthodes se basent sur des principes différents (Marinova et Batchvarov, 2011) :

- ✓ Piégeage des radicaux peroxydes : ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-trapping Antioxidant Power)
- ✓ Pouvoir de réduction du métal : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Power)
- ✓ Piégeage des radicaux organiques : ABTS (2,2-Azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) et DPPH (2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl),
- ✓ Quantification des produits formés durant la peroxydation lipidique : TRAPS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances).

Une étude récente réalisée par Alam *et al.* (2013) révèle que la méthode du piégeage des radicaux DPPH• est le test le plus souvent adopté pour l'estimation *in vitro* du pouvoir antioxydant d'un échantillon.

1.5.1. Test de réduction du radical stable DPPH•

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié, typiquement représenté sur l'atome d'azote adjacent au noyau picryle, mais fortement délocalisé (figure 11). Cette

délocalisation explique l'existence du DPPH• sous une forme monomère relativement stable à température ambiante. La délocalisation provoque également la couleur violette bien caractéristique de la solution de DPPH•.

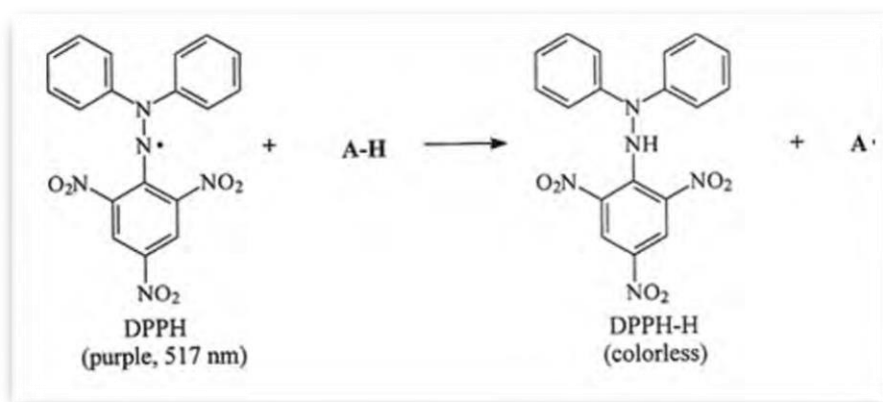


Figure 11 : Structure du DPPH avant et après la réaction avec un antioxydant (Guillouty, 2016).

La décoloration de ce radical suite à une réaction avec un antioxydant, composé donneur d'atomes H, peut être suivie par la mesure de l'absorbance à 515-520 nm (Prior *et al.*, 2005). Dans cette méthode, l'efficacité antioxydante est mesurée à la température ambiante, en éliminant, ainsi, le risque de la dégradation thermique des molécules testées. Cependant, le mécanisme réactionnel entre le DPPH• et un antioxydant dépend de la conformation structurelle de l'antioxydant. Le test est largement utilisé au niveau de l'évolution des extraits naturels très riches en composés phénoliques (Yi-Zhong *et al.*, 2006).

1.6. Effet antioxydant de la mélisse officinale

La mélisse (*Melissa officinalis*) est largement reconnue pour ses propriétés antioxydantes. Les principaux composés responsables de cette activité antioxydante sont les polyphénols, les flavonoïdes, l'acide rosmarinique, l'acide caféique et les huiles essentielles, qui neutralisent les radicaux libres et préviennent le stress oxydatif. Les mécanismes d'action incluent la neutralisation des radicaux libres, l'inhibition des enzymes oxydantes et l'augmentation des défenses antioxydantes endogènes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et le glutathion.

De nombreuses études confirment ces propriétés. Ekrem *et al.* (2017) ont révélé que l'administration de suppléments de mélisse officinale chez des patients atteints de diabète de type 2 pouvait augmenter les niveaux d'enzymes antioxydants et réduire le stress oxydatif. Yadegarinia *et al.* (2020) ont trouvé une corrélation significative entre les niveaux d'acide rosmarinique dans les huiles essentielles de mélisse et leur activité antioxydante, montrant

une capacité notable à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs induits par le peroxyde d'hydrogène. Ainsi, **Barreto *et al.* (2021)** ont démontré que les extraits de mélisse possèdent une activité antioxydante élevée, inhibant efficacement les radicaux DPPH et ABTS. De plus, **Hossain *et al.* (2022)** ont confirmé ces propriétés en utilisant diverses méthodes telles que le test FRAP et la capacité antioxydante totale (TAC), montrant une capacité élevée des extraits de mélisse à réduire les radicaux libres.

En Algérie, plusieurs études sur l'activité antioxydante de la mélisse (*Melissa officinalis*) mettent en lumière son potentiel thérapeutique. **Bouayed *et al.* (2011)** ont révélé une forte activité antioxydante des extraits de mélisse, attribuée à sa richesse en composés phénoliques. **Ben abdesselam *et al.* (2014)** ont confirmé que ces extraits protègent efficacement contre les dommages oxydatifs dans des modèles cellulaires. **Boudjelal *et al.* (2015)** ont découvert que les huiles essentielles de mélisse possèdent une activité antioxydante remarquable, notamment grâce à des composés comme le citral et le citronellal. Enfin, **Remini *et al.* (2017)** ont noté que l'extrait éthanolique de mélisse augmente les niveaux d'antioxydants endogènes et inhibe efficacement les radicaux libres. D'autres études sur les huiles essentielles de la mélisse soulignent également son potentiel antioxydant en Algérie, en la présentant comme une source d'antioxydants naturels, ouvrant la voie à des applications dans les domaines thérapeutiques et industriels (**Feknous, 2018 ; Alloun, 2019 ; Boudjema *et al.*, 2021**).

2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne se réfère à la capacité d'une substance à inhiber la croissance ou à tuer des micro-organismes tels que les bactéries, les champignons, les virus et les protozoaires. Les agents antimicrobiens, incluant les antibiotiques, antifongiques, antiviraux et antiparasitaires, agissent par divers mécanismes, comme la perturbation de la membrane cellulaire des microbes ou l'inhibition de la synthèse de protéines. L'étude de cette activité est cruciale pour développer de nouveaux traitements, particulièrement face à l'augmentation alarmante de la résistance des microbes aux antibiotiques. Dans ce contexte, la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes est devenue une priorité scientifique. Les plantes médicinales, riches en métabolites secondaires aux propriétés antibactériennes et antifongiques, émergent comme des sources prometteuses de nouveaux agents antimicrobiens, offrant des alternatives potentielles aux traitements actuels.

2.1. Les principales substances antimicrobiennes

2.1.1. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques qui inhibent la croissance ou détruisent les bactéries. Ils peuvent être d'origine naturelle, semi-synthétique ou entièrement synthétique. Leur découverte et utilisation ont révolutionné la médecine moderne, permettant le traitement efficace de nombreuses infections bactériennes auparavant mortelles, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques. Cependant, la montée de la résistance bactérienne aux antibiotiques constitue une menace croissante pour la santé publique mondiale (**Wright, 2016 ; Brown et Wright, 2016**).

La plupart des antibiotiques exercent leurs effets antibactériens en ciblant la paroi cellulaire bactérienne et la synthèse des protéines. Par exemple, les bêta-lactamines inhibent la synthèse de la paroi cellulaire, tandis que les aminoglycosides et les tétracyclines perturbent la synthèse des protéines. D'autres antibiotiques, comme les rifamycines, inhibent la synthèse de l'ARN en se liant à l'ARN polymérase bactérienne (**Lewis, 2013**).

Malgré leurs nombreux avantages, les antibiotiques présentent également certains inconvénients et limites : effets secondaires, toxicité des molécules antimicrobiennes pour l'organisme traité, et difficultés rencontrées dans le traitement des maladies nécessitant la destruction des bactéries pathogènes indépendamment des défenses du patient. De plus, l'utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques a conduit à l'émergence de résistances bactériennes, rendant certains traitements moins efficaces voire inefficaces (**Ventola, 2015**).

Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance bactérienne se définit par la capacité d'un micro-organisme à se développer en présence d'un agent antimicrobien, dont l'action empêche ou ralentit normalement sa croissance. Elle est dite naturelle lorsqu'elle est liée aux caractères génétiques normaux de l'espèce bactérienne. Elle est dite acquise lorsqu'elle touche des souches au sein d'une espèce bactérienne normalement sensible.

Les bactéries ont démontré leur capacité à accroître leur résistance aux antibiotiques par une multitude de mécanismes dont la nature et l'efficacité varient selon les espèces et les produits. Les principales stratégies connues sont de quatre types (**Levinson, 2014 ; Paolozzi et Liébart, 2015**).

-Production d'enzymes inactivatrices des antibiotiques : par exemple, les bêta-lactamases.

-Modification des cibles des antibiotiques : empêchant l'action de ces derniers.

-Diminution de la perméabilité cellulaire : réduisant l'entrée des antibiotiques dans la cellule.

-Réduction des concentrations intracellulaires d'antibiotiques : souvent due à un transport actif vers l'extérieur de la cellule via des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux (Cattoir, 2004).

2.1.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques présents dans diverses plantes sont parmi les principaux agents antimicrobiens d'origine naturelle. Ils ont démontré une activité antimicrobienne contre un large éventail de micro-organismes. Des études *in vitro* et *in vivo* ont confirmé l'efficacité de nombreux composés flavoniques, tels que l'apigénine, le kaempférol, la quercétine et la lutéoline, contre des souches bactériennes à Gram négatif comme *Escherichia coli* et à Gram positif comme *Staphylococcus aureus* (Cushnie et Lamb, 2011 ; Ulanowska et al., 2007). Des flavonoïdes isolés des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont montré une activité contre *Candida albicans*, tandis que des flavones isolées de la plante *Artemisia giraldi* ont exhibé une activité contre *Aspergillus flavus*, un mycète pathogène pour les patients immunosuppresseurs (Valsaraj et al., 1997 ; Wächter et al., 1999; Silva et al., 2016). L'activité antimicrobienne des composés phénoliques a été à la base de nombreuses applications prometteuses pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques et de produits de préservation des aliments, avec des applications potentielles dans la médecine traditionnelle, la médecine alternative et diverses industries (Silva et al., 2016).

2.2. Les souches microbiennes utilisées dans les tests antimicrobiennes

2.2.1. *Escherichia coli*

C'est une bactérie à Gram négatif, commensale du tube digestif de l'homme et de l'animal (Kaper et al., 2004). Elle est non sporulée, de type aérobie facultative et généralement mobile grâce à ses flagelles. Sa longueur varie de 2 à 6 μm , tandis que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm . *E. coli* est l'agent pathogène le plus fréquemment impliqué dans les infections aiguës des voies urinaires. Elle est également responsable de diarrhées estivales, de diarrhées infantiles et d'intoxications alimentaires (Croxen et al., 2013; Jang et al., 2017).

2.2.2. *Staphylococcus aureus*

Ce sont des cocci à Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5 μm , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires ou en petites chaînes. Ces bactéries sont habituellement

non capsulées ou possèdent des capsules limitées. Elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* est un agent pathogène commun impliqué dans les infections postopératoires des plaies, l'endocardite aiguë et les intoxications alimentaires (**Tong et al., 2015 ; Otto, 2018**).

2.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Ce sont des bacilles à Gram négatif, de forme non sporulée. Ces bactéries sont aérobies et mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles. Elles synthétisent principalement deux types de pigments : la pyocyanine, qui donne une couleur bleue, et la pyoverdine, qui donne une couleur jaune-vert. *P. aeruginosa* est connue pour sa résistance à plusieurs antibiotiques (**Ciofu et al., 2015**). Cette bactérie est responsable d'environ 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires et 8% des infections postopératoires des blessures chirurgicales (**Tacconelli et al., 2018**).

2.2.4. *Aspergillus brasiliensis*

C'est un champignon filamentueux du genre *Aspergillus*. Il est étroitement lié à *Aspergillus niger* et est souvent utilisé en laboratoire pour des études sur la biodégradation et la production de diverses substances. Ce contaminant alimentaire courant est omniprésent dans le sol et également régulièrement signalé dans les espaces fermés tels que les sites industriels. Ce champignon est également connu pour sa capacité à produire des enzymes utiles dans divers processus industriels, tels que la production d'enzymes alimentaires et la bioconversion de substrats organiques. L'*Aspergillus brasiliensis* cause rarement des maladies chez l'homme contrairement aux autres espèces d'*Aspergillus*. Cependant, dans ces rares cas, il peut entraîner une maladie pulmonaire grave appelée aspergillose (**Manikandan et al., 2010**).

2.3. Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne

On cite souvent ces 3 méthodes car considérées comme fournissant des résultats reproductibles :

- La diffusion en disque,
- La dilution en bouillon,
- La dilution en gélose.

2.3.1. Méthode de la diffusion en disque (Antibiogramme)

La méthode de la diffusion en disque, également connue sous le nom de méthode de diffusion sur gélose, est largement utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des

substances. Elle implique l'incubation d'une plaque de gélose ensemencée avec des micro-organismes pathogènes et la disposition de disques imbibés de substances à tester sur la surface de la gélose. Au fil du temps, les substances antimicrobiennes diffusent à partir des disques dans la gélose, créant une zone de croissance inhibée des micro-organismes autour des disques. Cette zone d'inhibition est mesurée pour évaluer l'efficacité antimicrobienne de la substance testée (**figure 12**). La diffusion en disque est facile à mettre en œuvre, reproductible et ne nécessite pas d'équipement coûteux. On doit noter en plus la facilité de modification des disques antimicrobiens si nécessaire (**Balouiri et al., 2016**).

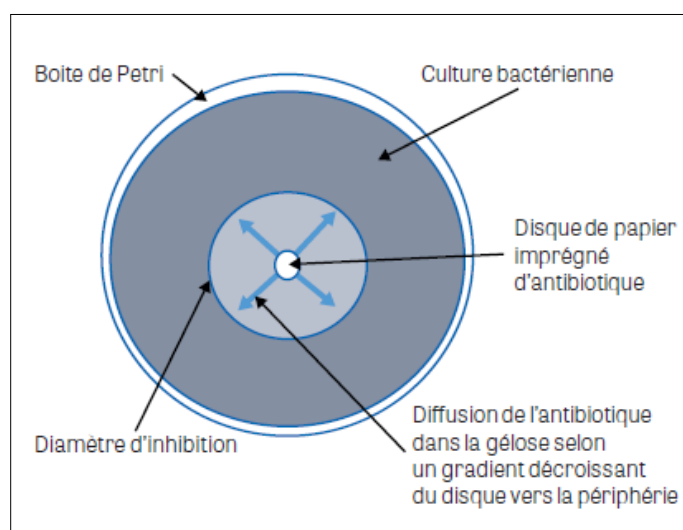


Figure 12 : Le principe de la mise en œuvre de l'antibiogramme
(**Romano-Bertrand et al., 2023**)

2.3.2. Méthodes de dilutions en bouillon et gélose

Le but de ces méthodes est de déterminer la CMI, habituellement exprimée en $\mu\text{g/ml}$ ou mg/litre .

a) Dilution en bouillon

Il s'agit d'une technique dans laquelle une suspension de bactéries est exposée à différentes concentrations d'un antimicrobien dans un milieu liquide. Cette méthode peut être réalisée soit dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution) soit en microtitration (microdilution) utilisant des volumes plus petits. Comparée à la dilution en gélose, cette méthode est plus reproductible et quantitative (**CLSI, 2018**).

b) Dilution en gélose

La méthode de dilution en gélose nécessite l'introduction d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé avec une progression précise des concentrations. Ensuite, un inoculum bactérien défini est appliqué à la surface de la gélose. Cette méthode est souvent considérée comme une référence pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

pour une combinaison spécifique de bactérie et d'agent antimicrobien (CLSI, 2020; EUCAST, 2022).

2.4. Effet antimicrobien de la mélisse officinale

La mélisse (*Melissa officinalis*) est une plante médicinale reconnue pour ses diverses propriétés thérapeutiques, dont son activité antimicrobienne. Les composés actifs de la mélisse officinale, tels que les polyphénols, les terpènes et les acides phénoliques, sont responsables de son activité antibactérienne. Plusieurs études ont investigué cet effet antimicrobien contre différentes souches bactériennes et fongiques.

Tout d'abord, **Rauha et al. (2020)** ont évalué les effets antimicrobiens des extraits aqueux et éthanoliques de mélisse. Les résultats ont montré une inhibition significative de la croissance de bactéries Gram-positives comme *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, ainsi que des effets modérés contre des bactéries Gram-négatives et des champignons comme *Candida albicans*.

Ensuite, **Olleik et al. (2021)** ont exploré les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de mélisse contre des souches résistantes aux antibiotiques. Les huiles essentielles ont démontré une activité significative contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et des souches de *Staphylococcus* résistantes à la méthicilline. L'étude a également identifié des composés actifs comme le géranial et le néral, qui contribuent à l'effet antimicrobien.

De plus, **Bouyahya et al. (2022)** ont examiné l'efficacité des extraits de mélisse contre des bactéries responsables d'infections cutanées. Les résultats ont montré une activité antimicrobienne notable contre *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*. L'étude a suggéré que les flavonoïdes et les acides phénoliques présents dans la mélisse sont les principaux responsables de cette activité.

Par ailleurs, **Kouidhi et al. (2023)** ont étudié l'effet des extraits de mélisse sur des biofilms bactériens, qui sont souvent plus résistants aux traitements antimicrobiens. Les extraits de mélisse ont montré une capacité à perturber la formation de biofilms et à réduire la viabilité des bactéries dans les biofilms, en particulier pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus epidermidis*.

Enfin, **Bendaoud et al. (2023)** ont analysé les effets combinés des huiles essentielles de mélisse avec des antibiotiques traditionnels. Les résultats ont indiqué une synergie entre les huiles essentielles de mélisse et certains antibiotiques, ce qui a augmenté l'efficacité des

traitements antibactériens contre des souches résistantes de *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter baumannii*.

En Algérie, de nombreux chercheurs se sont intéressés à la mélisse afin d'évaluer son efficacité contre différentes souches bactériennes et fongiques, que ce soit pour ses extraits ou son huile essentielle. Les études menées dans ce domaine ont permis de mieux comprendre les mécanismes d'action de la mélisse et d'identifier les composés responsables de ses effets antimicrobiens (**Bouayed et al., 2011; Benabdesselam et al., 2014; Boudjelal et al., 2015; Remini et al., 2017; Feknous, 2018; Alloun, 2019; Boudjema et al., 2021**). Ces travaux récents montrent que la mélisse possède un potentiel antimicrobien significatif, particulièrement intéressant pour lutter contre des souches résistantes et pour améliorer l'efficacité des traitements antibiotiques. Les extraits et huiles essentielles de mélisse continuent de représenter une source prometteuse de nouveaux agents antimicrobiens naturels.

Partie 2: Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

Le travail expérimental a été effectué au niveau de plusieurs structures, notamment :

- Au parc national de Chréa, nous avons récolté la plante *Melissa officinalis* L., poussant à l'état spontané à Hammam Melouane, à Blida.
- À l'université de Khemis Meliana, nous avons préparé l'extrait éthanolique et effectué le screening phytochimique de la plante au laboratoire de Biochimie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Les dosages des métabolites secondaires et de l'activité antioxydante ont été réalisés au laboratoire de Chimie du département des Sciences Technologiques.
- Au laboratoire privé d'analyses médicales de M. Zibouche à Ain Defla, nous avons déterminé les activités biologiques de l'extrait de mélisse (antibactérienne et antifongique).

Le protocole expérimental suivi pour réaliser cette étude est mentionné dans la **figure13**.

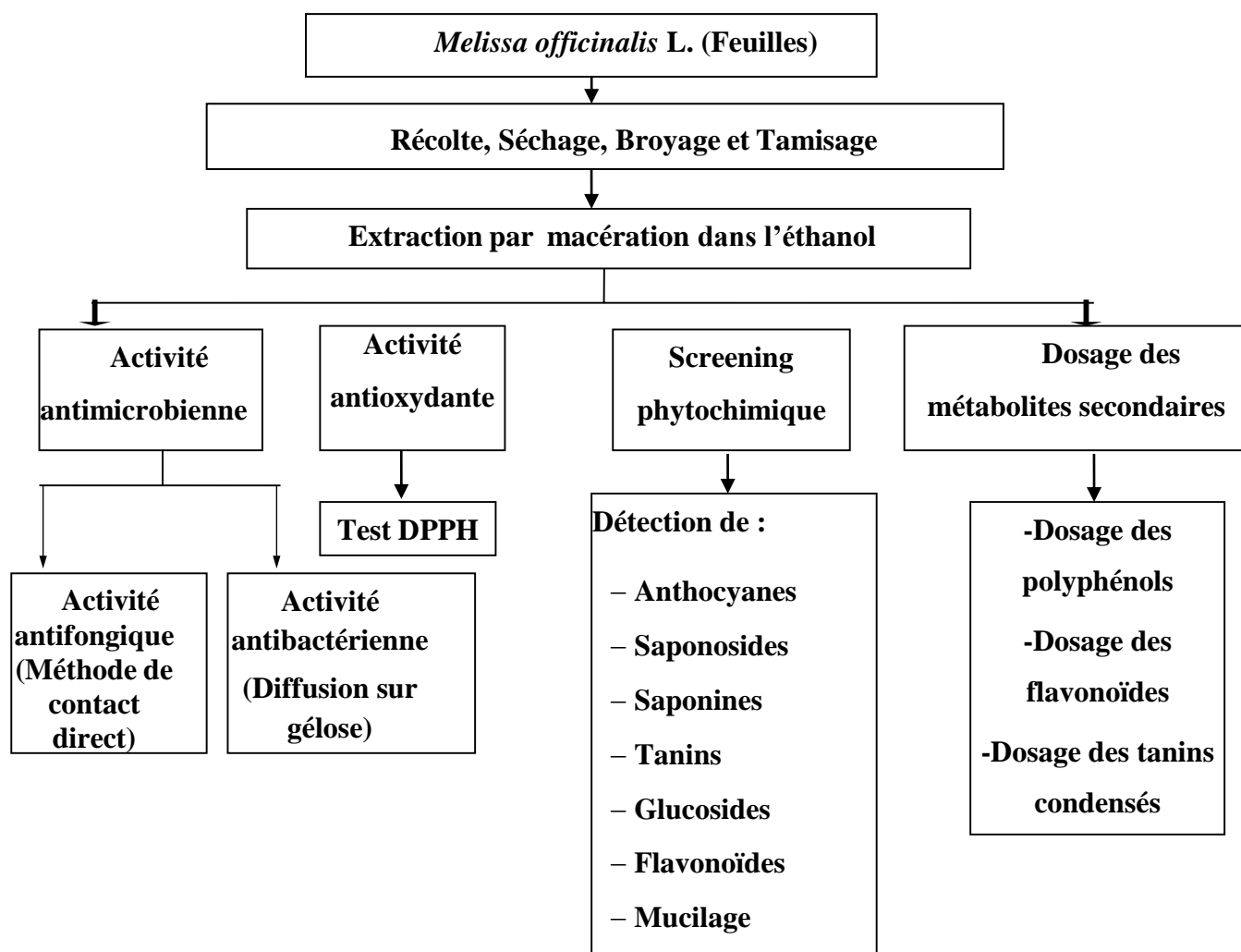


Figure 13 : Le protocole expérimental de cette étude

1. Matériel

1.1. Appareils et produits chimiques

Les appareils et les réactifs utilisés au cours de cette étude sont rapportés en Annexe N°I.

1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de plants de la mélisse officinale, espèce herbacée appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Elle pousse en Algérie à l'état spontané. Elle est parfois cultivée dans des jardins comme plante décorative.

Les parties aériennes (tiges et feuilles) ont été récoltées au mois d'Avril 2024, avant la période de floraison dans la région Hammam Mélouane wilaya de Blida à 269 m d'altitude (**tableau 3**).

Tableau 3: Coordonnées géographiques du site de récolte de *Melissa officinalis*

Région	Localisation	Altitude	Latitude	Longitude
Hammam Melouane	Blida - Algérie	269 m	36°28'46.06'' Nord	3°02'51.05'' Est

L'identification de l'espèce *Melissa officinalis* L. (**figure 14**) a été effectuée à l'aide de la flore Algérienne (**Quezel et Santa, 1962**) et authentifiée après consultation de l'herbier du parc national de Chréa, secteur Hammam Mélouane.



Figure 14 : La plante de *Melissa officinalis* L. poussant à l'état spontanée à HammamMelouane (**Originale, 2024**).

2. Méthodes d'étude

2.1. Séchage et broyage

Le séchage de la plante (feuilles- tiges) a été effectué naturellement à l'abri de la lumière sur du papier blanc (**figure 15**) dans un endroit bien aéré durant 15 jours afin d'éviter la photo- oxydation des substances.

Après séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un moulin à café pour l'obtention d'une poudre fine, qui a subi un tamisage pour séparer les particules trop grossières. Cette dernière est conservée dans un flacon en verre ombrés bien fermé et conservée jusqu'à l'utilisation.



Figure 15: Séchage de la plante (**Originale, 2024**)

2.2. Préparation de l'extrait éthanolique

20 g de poudre sont mis à macération pendant 24 heures avec 200 ml d'éthanol (96%). Le macérât obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman N°1. Le filtrat est ensuite évaporé sous vide à 60 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif de type Rotavapor® 300 (**figure 16**). Les résidus sont ensuite dissous dans de l'éthanol pour l'étude phytochimique et l'activité antioxydante, et dans du DMSO pour l'évaluation des activités antimicrobiennes. L'extrait, de couleur verte, est appelé extrait éthanolique des feuilles (EEF). Les extraits sont conservés à 4 °C jusqu'à leur utilisation (**Boudjema et al., 2021**).

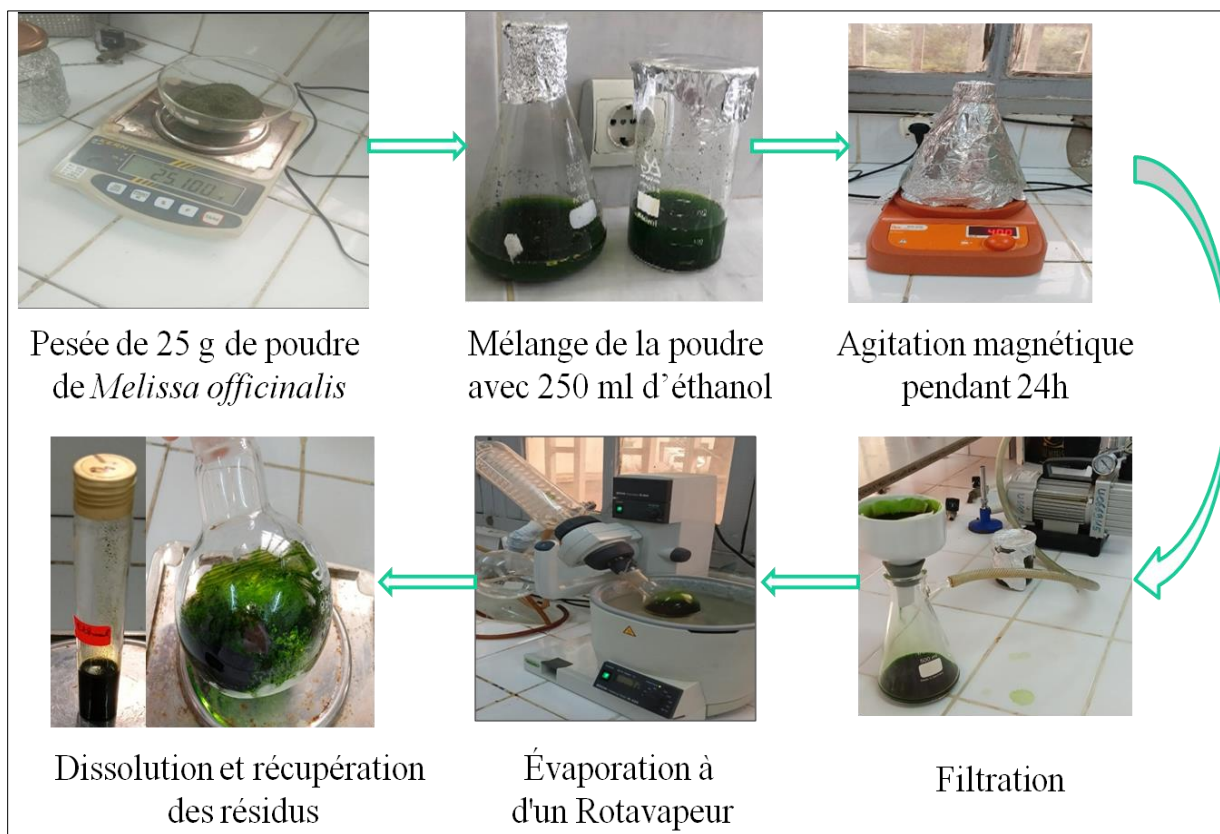


Figure 16 : Filtration et évaporation de l'extrait éthanolique de la mélisse

Calcul du rendement en extraits

C'est la quantité des composés ou substances pouvant être extraite par un solvant typique dans des conditions spécifiques (**Diallo, 2005**). Le rendement (**R%**) est déterminé par la formule suivante :

$$R\% = \frac{(P - P_0)}{P_t} \times 100$$

Avec :

P : poids en gramme du ballon avec l'extrait sec.

P₀ : poids en gramme du ballon vide.

P_t : poids en gramme de la poudre végétale utilisée.

2.3. Etude phytochimique

Le but de cette étude est de :

- Caractériser certains métabolites secondaires de la plante par criblage chimique ;
- Déterminer la teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins;

2.3.1. Screening phytochimique :

Le criblage phytochimique est un ensemble de réactions chimiques simples permettant

d'orienter rapidement vers une étude détaillée de certains types de constituants chimiques (Girre, 2001).

Le screening phytochimique a été effectué selon la méthode décrite Par **Boudjema *et al.* (2020)**.

- Principe

Les tests phytochimiques sont des méthodes colorimétriques qui permettent de détecter différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante. Ils reposent sur des réactions qualitatives telles que la précipitation ou la coloration avec des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. Le but de ces tests est de mettre en évidence la présence ou l'absence des principaux métabolites secondaires tels que les anthocyanes, les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, les glucosides, les saponines et les mucilages.

Les tests sont effectués soit sur la poudre, soit sur un l'infusé.

Les résultats seront classés selon **Négué Diarra. (2003)**:

- Réaction franchement positive : + + +
- Réaction moyennement positive : + +
- Réaction faiblement positive : +
- Réaction négative : -

- Préparation de l'infusé :

Nous avons pris 10 g de poudre que nous avons mis dans 100 ml d'eau distillée en ébullition puis la solution est mise dans un agitateur magnétique pendant 15min, filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat est récupéré dans un flacon ombré et conservé à une basse température.

a) Recherche de Glucosides

On mélange 2g de poudre de la plante avec quelques gouttes d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré (96%). L'apparition d'une couleur rouge-bleu indique la présence de glucosides.

b) Recherche de Saponosides

Mélanger 2ml d'infusé avec 2 ml d'une solution d'acétate de plomb à 1%. La formation d'un précipité blanc indique la présence de saponosides.

c) Recherche de Tanins

On mélange 1ml d'extrait avec 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 10%. Une coloration verte foncée ou bleu-noir indique la présence de tanins.

d) Recherche d'Anthocyanes

On mélange 5ml d'infusé avec 1ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) concentré (30%). Une coloration rouge indique la présence d'anthocyanes.

e) Recherche de Flavonoïdes

On introduit dans un tube à essai 5 ml d'infusé, auquel on ajoute 5 ml d'acide Chlorhydrique (HCl), 1ml d'alcool iso-amylque, puis quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge-orangée indique la présence des flavonoïdes.

f) Recherche de Saponines

50 ml d'eau distillée et 5g de poudre sont portés à ébullition modérée pendant 15 min. Après refroidissement, la solution est filtrée et ajustée à 50 ml avec de l'eau. Dans un tube à essai, 10 ml du décocté précédemment préparé sont introduits et agités dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, à raison de deux agitations par seconde. On laisse reposer pendant 15 min. La formation d'une mousse stable et persistante indique la présence de saponines.

g) Recherche de Mucilage

On introduit 1ml d'infusé dans un tube à essai, puis on ajoute 5 ml d'alcool absolu. La formation d'un précipité floconneux indique la présence de mucilage.

2.3.2. Caractérisation quantitative de l'extrait :

Dosage des polyphénols totaux

▪ **But** : détermination de la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique des feuilles de la mélisse par la méthode spectrophotométrie UV-Vis selon la méthode au réactif de Folin Ciocaltu (**Aloui et al., 2020**).

▪ **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolibdique (H₃PMO₁₂O₄₀), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm (**Boizot et Charpentier, 2006**).

a-Mode opératoire

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon une méthode décrite par **Ghedadba et al. (2015)**, avec de légères modifications, illustrée dans la figure 17 ci-dessous.

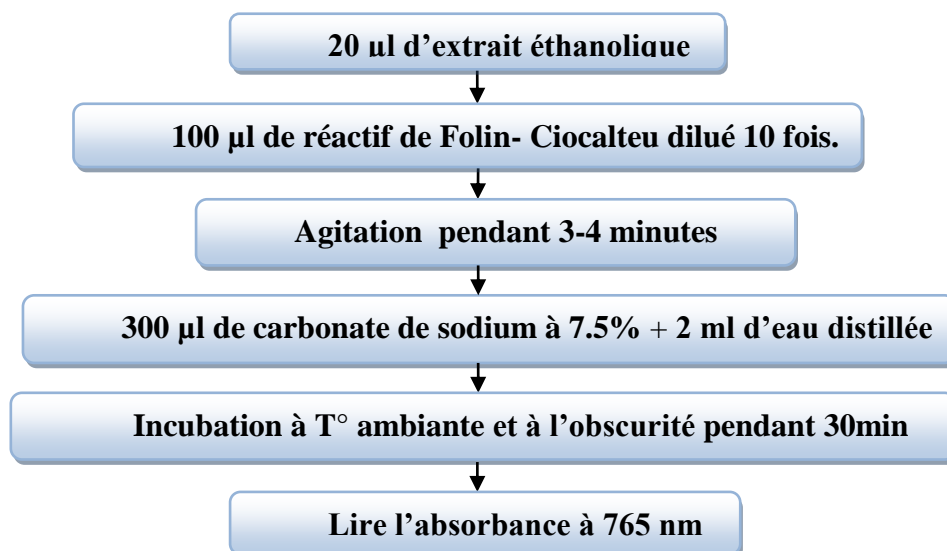


Figure17 : Protocole de dosage des phénols totaux.

b-Expression des résultats

La concentration des phénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (**figure 18 ; annexe II**) et elle est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/mg MS).

$$PT = (c \times V) / m$$

Avec :

PT: La teneur en phénols totaux (mg équivalent d'ac. gallique/ g de matière sèche).

c : Concentration de l'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (µg/ml).

V: Volume de l'extrait éthanolique

m: Le poids de la matière sèche (g).

+ Dosage des flavonoïdes

Ce dosage est déterminé par la méthode de **Djeridane et al. (2006) ; Barros et al. (2007)**. La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits. Le protocole de dosage est illustré dans **la figure 19**.

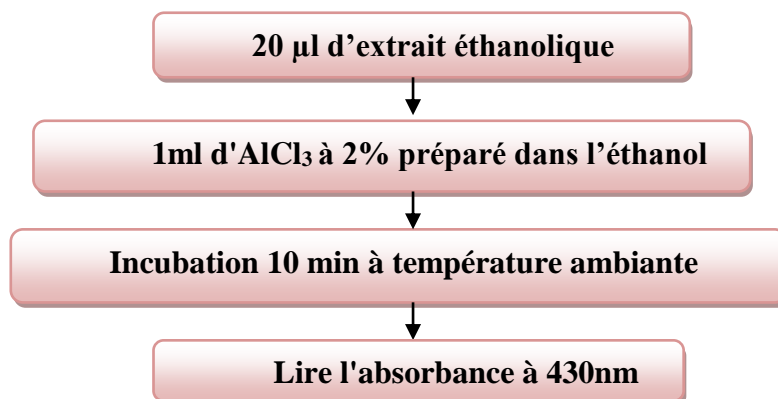


Figure 19 : Protocole de dosage des flavonoïdes.

a-Préparation de l'étalon

À partir d'une solution mère de quercétine à 5 mg/ml, on prépare des dilutions de différentes concentrations : 1-40 µg/ml. On prend 20 µl de chaque concentration et on ajoute 1 ml d'AlCl₃ à 2 %, puis on les mélange au vortex. Après incubation de 10 minutes, on lit l'absorbance à 430 nm.

b-Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de la quercétine et exprimée en milligrammes équivalent de quercétine par g de matière sèche (**figure 20 ; annexe II**) selon la formule suivante :

$$[\text{flavonoïdes}] = \frac{a \cdot f}{b}$$

a : concentration des flavonoïdes en µg/ml déterminée à partir de la courbe étalon

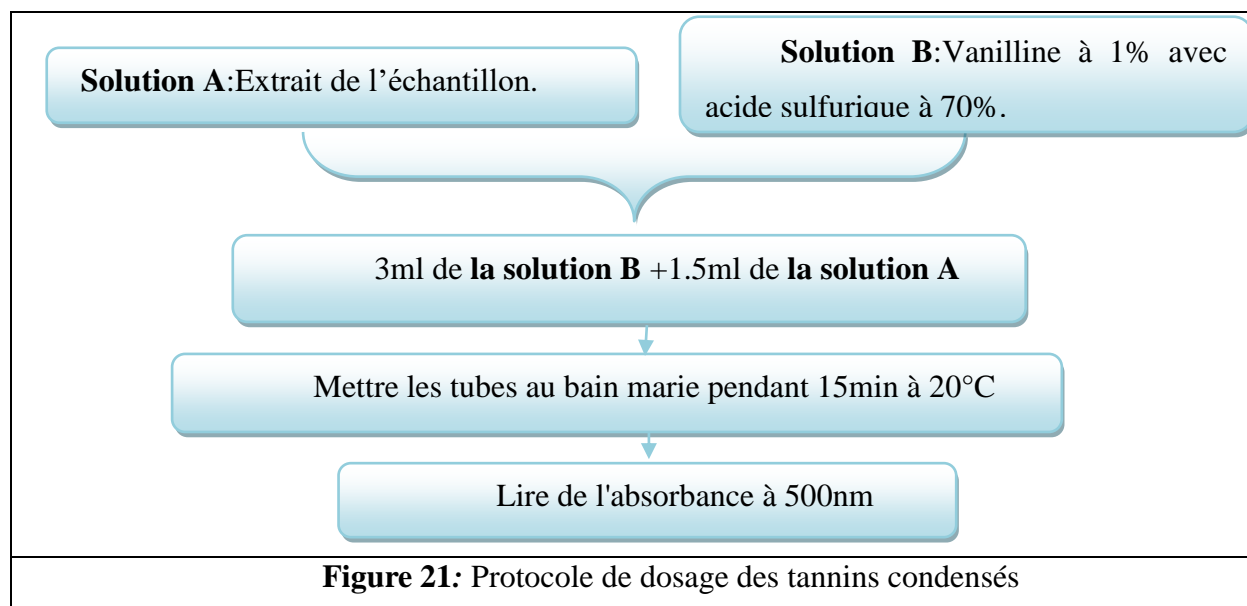
f : facteur de dilution (x100)

b : Le poids de la matière sèche (g).

+ Dosage des tanins condensés

a-Mode opératoire

Ce test de la vanilline avec H₂SO₄ est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide (**Sun et al.,1998**). Il est spécifique des flavones 3-ols (**figure .21**).



b-Expression des résultats

La teneur en tanins condensés est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de la catéchine et exprimée en milligrammes équivalent de catéchine par g de matière sèche (**figure 22 ; annexe II**) selon la formule suivante :

$$[\text{Tanins condensés}] = \frac{a \cdot f}{b}$$

a : concentration des tanins condensés en $\mu\text{g/ml}$ déterminée à partir de la courbe étalon

f : facteur de dilution ($\times 100$)

b : Le poids de la matière sèche (g).

2.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le test diphényl-picryl-hydrazyl (DPPH)

Dans cette étude, la méthode du DPPH a été choisie pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique des feuilles de *Melissa officinalis* L. en présence d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique (vitamine C), vis-à-vis du radical DPPH.

Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante. La méthode au DPPH• présente plusieurs avantages du fait qu'elle soit simple, rapide et indépendante. Elle est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH• (violet) en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), ce qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire, le DPPH-H (jaune) (**figure 23**). La réduction du DPPH• en DPPH-H se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à la recombinaison des radicaux DPPH•, par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 515-517 nm (**Bozin et al., 2008**). Ainsi, plus la perte de couleur est rapide, plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort.

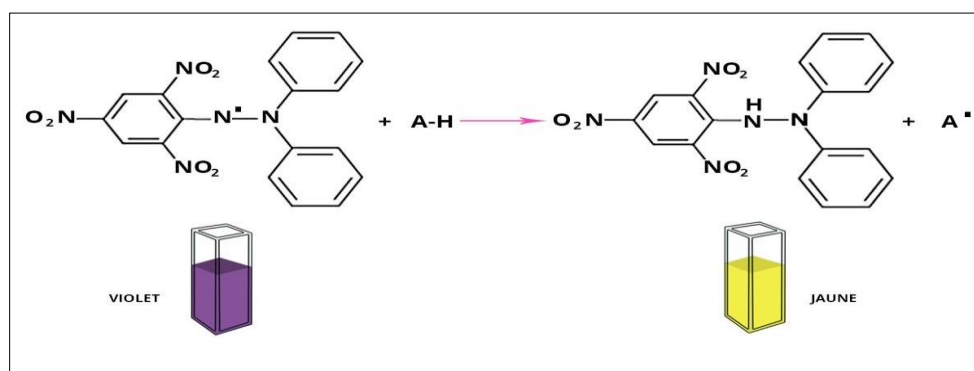


Figure 23 : Réduction du radical DPPH (Guillouty, 2016)

a-Mode opératoire :

L'activité antioxydante des feuilles de *M.officinalis* est déterminée selon **Boudjema et al. (2021)** avec quelques modifications.

- **Préparation de la solution mère et les dilutions de l'extrait:**

Un volume de 500 µl de l'extrait éthanolique de la mélisse a été prélevé, auquel 1 ml d'éthanol a été ajouté pour la préparation de notre solution mère. Après sept dilutions ont été préparées en choisissant différentes concentrations (20, 40, 60, 80, 100, 200 et 250 µl/ml). Ou chacune des dilutions est mélangée avec 1ml de la solution éthanolique de DPPH (une solution de DPPH est préparée en ajouton 100 ml d'éthanol à 4 mg de poudre de DPPH, la solution obtenue est de couleur violette) après une période d'incubation de 30 min dans l'obscurité à température ambiante (**figure 24**). En parallèle, des solutions éthanoliques d'antioxydant de référence (L'acide ascorbique Vit C et le contrôle négatif contient uniquement la solution éthanolique de DPPH ont été préparé dans les mêmes conditions. Toutes les expériences ont été répétées 3 fois. L'absorbance a été mesurée par un spectrophotomètre à 517 nm.

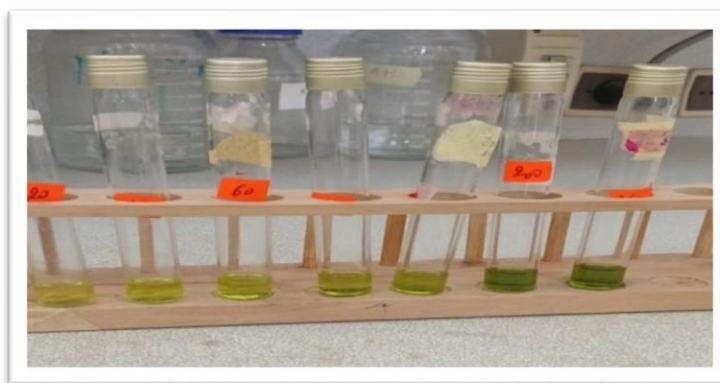


Figure 24 : Préparation des dilutions (**Originale 2024**)

Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'extrait éthanolique a été calculé comme suit :

$$[\% = [(Abs T - Abs E)/Abs T] \times 100.]$$

Où :

- Abs T: Absorbance du témoin : ce dernier contient la solution éthanolique du DPPH.
- Abs E: Absorbance de l'échantillon testé.

Le pourcentage d'inhibition est finalement exprimé sous forme d'IC 50 (concentration permettant d'obtenir 50% d'inhibition). Celle-ci est calculé à partir d'une droite de régression établie à l'aide des pourcentages d'inhibition (I%) enregistrée en fonction des différentes concentrations de l'extrait à tester. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte capacité à neutraliser le radical libre DPPH.

Les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus pour l'Acide Ascorbique pris comme un antioxydant de référence.

2.5. Activités biologiques étudiées

Pour cette partie, nous aborderons l'effet antimicrobien de la mélisse officinale en testant son extrait éthanolique. L'activité biologique des parties aériennes de *Melissa officinalis* a été évaluée en termes d'activités antibactérienne et antifongique.

Principe

La méthode de diffusion sur gélose, appelée aromatoگرامme, est l'équivalent de l'antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des extraits. La méthode consiste à utiliser des disques imprégnés des extraits et à les déposer sur la surface de la géloseensemencée (Hellal, 2011).

2.5.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Muller Hinton) (Limam *et al.*, 2024).

2.5.1.1. Souches bactériennes testées

L'activité antibactérienne est effectuée sur trois souches bactériennes. Les souches utilisées proviennent du laboratoire privé d'analyses médicales de Mr Zibouche (Ain Defla) (tableau 4).

Les souches bactériennes testées ont été choisies pour leurs fréquences élevées dans les contaminations humaines mais aussi parce qu'elles sont résistantes aux antibiotiques voire multi-résistantes et sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection), référenciées par l'institut pasteur.

Tableau 4 : Liste des souches microbiennes testées

Microorganismes testés	Gram	Souches	Référence
Les souches bactériennes	Gram+	<i>Staphylococcus aureus.</i>	ATCC 259 23
	Gram -	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853

2.5.1.2. Milieux de cultures utilisées

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologiques sont les suivants (Annexe I) :

- Bouillon nutritive (BN) ;
- Gélose nutritive (GN) ;
- Gélose Muller-Hinton (MH).

2.5.1.3. Repiquage des germes

Après stérilisation de la zone de travail, les souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre contenant de la gélose nutritive, puis incubées à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Celles-ci vont servir à préparer l'inoculum (**figure 25**).

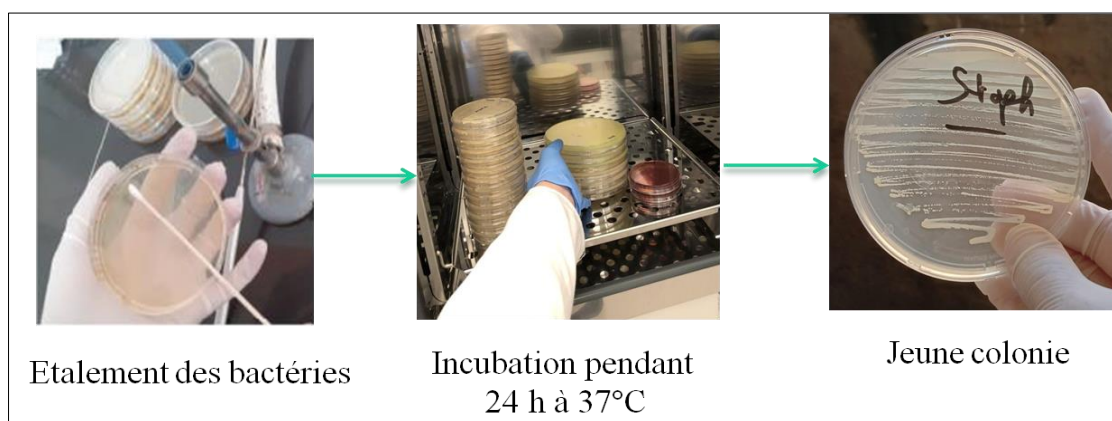


Figure 25 : Repiquage des germes (**Originale, 2024**)

2.5.1.4. Préparation de l'inoculum bactérien

Les inoculums sont préparés à partir de cultures jeunes (18 à 24 h) en milieu liquide (bouillon nutritif, BN). Pour cela, quelques colonies bien isolées sont prélevées à l'aide de l'anse de platine et mises dans 9 ml de BN puis homogénéisées à l'aide du vortex. La densité

Chapitre I : Matériel et méthodes

optique des suspensions bactériennes, lue à 625 nm, est ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis, à entre 0,08 et 0,10 correspondant à 10^8 UFC/ml. L'inoculum est ajusté en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible en concentration, soit de l'eau physiologique s'il est trop chargé.

2.5.1.5. Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, en utilisant un écouvillon stérile trempé dans l'inoculum bactérien, puis en frottant la totalité de la surface de la gélose Mueller Hinton avec des stries serrées. Cette opération est répétée quatre fois, en tournant la boîte de 60° à chaque passage et en pivotant l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement se termine par un passage de l'écouvillon le long de la périphérie de la gélose.

Ensuite, à l'aide d'une pince stérile, deux disques vierges de 6 mm de diamètre sont placés sur la gélose ensemencée. À l'aide d'une micropipette, 20 μ l de l'extrait à tester (éthanolique) sont ajoutés sur le premier disque, tandis que 20 μ l de DMSO sont ajoutés sur le deuxième disque en tant que témoin négatif. Un disque de 6 mm de diamètre contenant un antibiotique est également déposé sur la gélose ensemencée comme témoin positif. Les différents antibiotiques utilisés pour chaque souche bactérienne sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Liste des antibiotiques testés pour chaque souche bactérienne.

Bactéries	Antibiotiques
<i>Escherichia coli</i>	Colistine 10 μ g
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ticarcilline 85 μ g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Vancomycine 30 μ g

Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la diffusion de l'extrait. Elles sont ensuite placées à l'étuve, renversées sur leur couvercle, à 37°C pendant 24 heures (**Figure 26**).

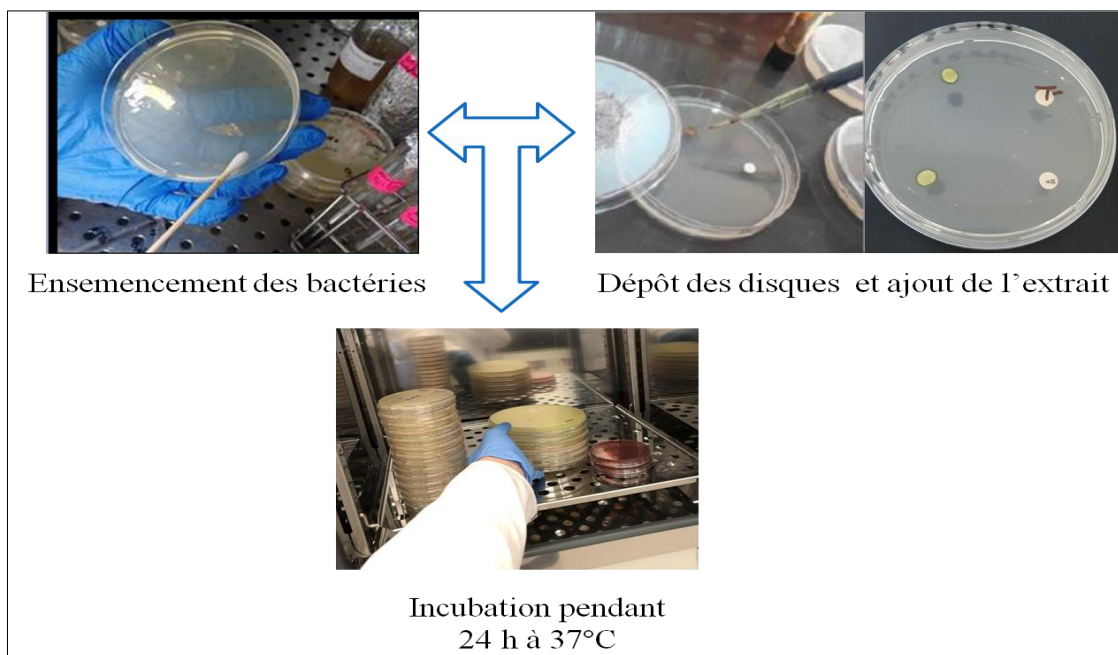


Figure 26 : Évaluation de l'activité antibactérienne (Originale, 2024)

2.5.5.3. Lecture et expression des résultats

La lecture des résultats consiste à mesurer les diamètres des halos d'inhibition autour des disques contenant l'extrait, en millimètres. Le diamètre initial des disques est inclus dans ces mesures, effectuées à l'aide d'une règle graduée. Toutes les procédures sont réalisées dans des conditions stériles, et chaque mesure est répétée deux fois pour garantir la précision des résultats.

Expression des résultats

L'apparition et l'importance d'une zone claire autour du disque appelée « zone d'inhibition » après incubation reflètent l'efficacité de l'extrait éthanolique sur la souche bactérienne testée. Les résultats sont symbolisés par des signes suivant la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait (**Tableau 6**).

Tableau 6: diamètres des zones d'inhibition selon le degré de sensibilité (**Ponce et al., 2003**)

Diamètre du halo d'inhibition(\emptyset)	Degré de sensibilité des germes	Résultat
$\emptyset < 8\text{mm}$	Résistant	-
$9 > \emptyset > 14\text{mm}$	Sensible	+
$15 > \emptyset > 19\text{mm}$	Très sensible	++
$\emptyset > 20\text{mm}$	Extrêmement sensible	+++

2.6. Activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* L. a été réalisée selon la méthode de contact direct décrite par **Ben Abdallah et al. (2019)**. Pour cette étude, une souche fongique d'*Aspergillus brasiliensis* (ATCC 6633), provenant du laboratoire d'hygiène de Blida, a été utilisée.

2.6.1. Repiquage et préparation de l'inoculum fongique

La souche fongique étudiée est repiquée dans un milieu PDA (Potato-Dextrose Agar) afin d'obtenir des cultures jeunes. À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, quelques colonies bien isolées sont prélevées et homogénéisées avec 5 ml de solution saline. La suspension obtenue est ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex. À l'aide d'un écouvillon stérile, les champignons sont prélevés et inoculés sur la surface du milieu de culture (PDA) en conditions stériles. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et placées dans une étuve à 30 °C pour une incubation d'une durée de 5 jours.

Pour ajuster la charge microbienne des champignons, la densité optique de la suspension a été mesurée à 530 nm avec un spectrophotomètre et ajustée à une DO de 0,1, correspondant à une concentration d'environ 10^5 spores/ml.

2.6.2. Ensemencement des champignons

À l'aide de micropipette, 1 ml d'extrait est introduit dans une boîte de Pétri vide, puis 9 ml de milieu PDA à chaud (donc à l'état liquide) sont ajoutés. L'ensemble est homogénéisé (liquéfiée et refroidie) et les boîtes sont laissées à température ambiante afin de permettre au milieu de se solidifier.

L'ensemencement se fait par dépôt d'un fragment de champignon de 1 cm de diamètre, prélevé à partir de la périphérie du tapis mycélien et placé au centre de la boîte de Pétri (**figure 27**). L'incubation se fait pendant 48 h à 30°C. Chaque essai est répété trois fois.

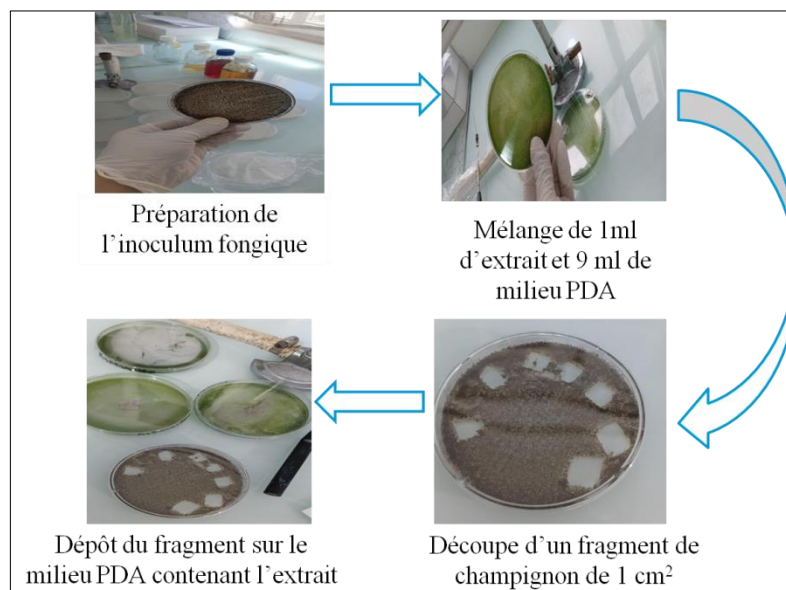


Figure 27 : Evaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct
(Original, 2024)

2.6.2. Lecture des résultats

Après le temps d'incubation requis, les diamètres des différentes colonies de champignons sont mesurés à l'aide d'une règle graduée. Le taux d'inhibition est calculé à partir de l'équation :

$$I (\%) = (dC - dE) / dC * 100$$

I (%) : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

dC : Diamètre des colonies dans les boîtes « témoins positifs »

dE : Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

L'extrait de plante est dit :

- ✚ Très actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 75% et 100%, la souche fongique est dite très sensible.
- ✚ Actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 50% et 75%, la souche fongique est dite sensible.
- ✚ Moyennement actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 25% et 50%, la souche fongique est dite limitée.
- ✚ Peu ou pas actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 0% et 25%, la souche fongique est dite peu sensible ou résistante.

2.7. Traitement statistique des données

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS, version 26. Les résultats sont considérés comme significatifs lorsque la probabilité (p) est inférieure à 0,05. Les différences observées pour les divers paramètres ont été analysées à l'aide du test non paramétrique de Mann-Whitney, utilisé pour comparer les moyennes de l'activité antioxydante. Une analyse de la variance (ANOVA) à un seul facteur a également été effectuée.

Ce chapitre présente les résultats de toutes les expériences menées dans notre étude, y compris le criblage phytochimique des feuilles, le dosage des métabolites secondaires, ainsi que les activités biologiques antibactérienne, antifongique et antioxydante de la plante *Melissa officinalis* L., suivis de leur discussion.

1. Rendement d'extraction

Le rendement de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Melissa officinalis* est de 5,1 %. Peu de travaux ont été réalisés sur l'extrait éthanolique de la mélisse en Algérie. Nos résultats se rapprochent de ceux de **Remiki et al. (2022)**, qui ont récolté la même plante dans la région de Batna et ont obtenu un rendement d'extraction de $5,49 \pm 1,02$ %. **Belhadj et al. (2018)** ont obtenu un rendement de 4,8 %, tandis que **Massaoudi et al. (2020)** ont rapporté un rendement de 6,2 %. **Feknous (2018)** a enregistré un rendement de 9,75 %. Ces rendements sont toutefois nettement inférieurs à ceux obtenus par **Khali et Henna (2015)**, qui rapportent un rendement de 21,8 %, et par **Alloun (2019)**, qui a obtenu un rendement de 12,15 % pour l'extrait éthanolique de la mélisse. De plus, **Adimi (2018)** a récolté la même plante dans la région de Sétif et a obtenu un rendement d'extraction de 16,1 %. Cette différence pourrait être due à la technique d'extraction utilisée. En dehors de l'Algérie, **Perry et al. (1999)** en Italie ont obtenu un rendement de 7,6 %. **Gören et al. (2004)** en Turquie ont obtenu un rendement de 8,3 %, tandis que **Salehi et al. (2018)** en Iran ont rapporté un rendement de 10,5 %.

En effet, **Majhenic et al. (2007)** ont rapporté que l'extraction par solvant à température élevée permet d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante.

D'une manière générale, il est difficile de comparer les résultats d'extraction avec des données bibliographiques en raison de l'impact de divers facteurs, notamment l'origine du matériel végétal, la saison de récolte, les conditions environnementales, la technique de séchage, ainsi que le type de solvant utilisé (**Daoudi et al., 2022**).

2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques permettent de détecter les principaux composés chimiques présents dans la partie aérienne de *Melissa officinalis*. Les résultats des tests effectués sur la poudre, l'extrait éthanolique, l'infusion, et le décocté de notre plante sont présentés dans le tableau suivant :

Chapitre II : Résultats et discussion

Tableau 7 : Résultats du screening phytochimique de la plante *M.officinalis*.

Composés chimiques	Réactifs	couleurs	Résultats
Glucosides	Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	Rouge-bleu	+
Saponosides	Acétate de plomb	Précipité blanc	+++
Tanins	Chlorure ferrique (FeCl ₃)	Vert foncé ou bleu-noir	+++
Anthocyanes	Hydroxyde d'ammonium (NH ₄ OH)	Rouge	-
Mucilage	Alcool absolu	Précipité floconneux	+++
Flavonoïdes	Acide chlorhydrique (HCl), alcool iso-amylique et magnésium (Mg)	Rouge-orangée	++
Saponines	Agitation	Mousse	+

Réaction franchement positive : + + + Réaction moyennement positive : + +
Réaction faiblement positive : + Réaction négative : Absence -

Le tableau 7 montre que les principaux composés présents en grande quantité dans la poudre de mélisse sont les tanins, les saponosides et les mucilages. Les flavonoïdes sont moyennement présents, tandis que les autres composés, tels que les glucosides et les saponines, sont en faible quantité. De plus, notre plante se caractérise par l'absence totale d'anthocyanes.

En effet, le screening phytochimique met en évidence la présence de composés chimiques possédant des activités biologiques intéressantes, notamment les substances polyphénoliques (tanins et flavonoïdes).

Les tanins, en particulier les tanins galliques, possèdent des propriétés antidiarrhéiques et sont également reconnus pour leurs activités antiseptiques, antibactériennes et antifongiques. Ils ont une forte activité antioxydante, agissant comme d'excellents piègeurs de radicaux libres et inhibant la formation du radical superoxyde.

Les flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, et jouent un rôle bénéfique dans le traitement des maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. Dans certains cas, ils sont également réputés pour leurs activités antivirales, antimicrobiennes et anti-tumorales. L'extrait de *Melissa officinalis*, en raison de la

Chapitre II : Résultats et discussion

présence de ces familles chimiques, présente des activités pharmacologiques potentielles, faisant de cette plante une cible de choix pour l'enrichissement de la production de médicaments.

Ces résultats concordent avec ceux de **Khali et Henna (2015)** et de **Feknous (2018)**, qui mentionnent que la plante *Melissa officinalis* L., une espèce des Lamiacées de la région de Hammam Melouane, est riche en divers métabolites, notamment en flavonoïdes, tanins, et saponosides. En revanche, nos résultats diffèrent légèrement de ceux de ces auteurs, qui soulignent l'absence de glucosides dans les feuilles de la mélisse. Cette différence de composition pourrait être liée à la variation des conditions climatiques, à l'âge de la plante, à la période de récolte, et même à la dessiccation. **Ulubelen et al. (2005)**, ont révélé la richesse des Lamiacées en flavonoïdes, présents dans toutes les parties de la plante, et particulièrement abondants dans les parties aériennes.

Nos résultats sont également en accord avec ceux trouvés par **Boudjema et al. (2021)** sur la poudre de mélisse récoltée dans la région de Tizi Ouzou, ainsi que sur son infusé, son décocté et son extrait éthanolique, et avec ceux de **Remiki et al. (2022)** sur la mélisse récoltée à Batna.

Ces mêmes observations ont été faites par **Bounihi (2016)**, qui a réalisé le screening phytochimique de la mélisse et de la menthe récoltées dans la région d'El Jadida au Maroc. Enfin, les résultats obtenus à l'issue de notre criblage phytochimique sont également appuyés par ceux de **Naghibi et al. (2005)**, qui ont mentionné que les espèces des Lamiacées sont riches en divers métabolites, dont les flavonoïdes et les tanins.

3. Teneurs en métabolites secondaires

Les moyennes et écart types relatifs aux teneurs en métabolites secondaires de l'extrait éthanolique de *M.officinalis* sont donnés dans **le tableau 8**.

Tableau 8 : Teneurs en métabolites secondaires de l'extrait éthanolique de la mélisse.

Métabolites	Teneur (mg équivalent étalon/g MS)
phénols totaux	30,80± 1,53 mg EAG/gMS
Flavonoïdes	1.693 ±0,03 mg EQ/g MS
Tanins condensés	3.32± 0.02 mg EC/g MS

3.1. Teneur en phénols totaux

L'analyse quantitative des phénols totaux de l'extrait éthanolique des feuilles de la plante étudiée a été réalisée en se référant à une courbe d'étalonnage établie à partir d'une gamme de solutions standard d'acide gallique. La quantité de phénols totaux dans les extraits est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

Les résultats obtenus indiquent que la quantité des composés phénoliques dans l'extrait éthanolique de la mélisse est relativement importante, avec 30,80 mg EAG/g MS, soit 3,08 %/g. En général, toutes les plantes de la famille des Lamiacées sont connues pour leur richesse en composés phénoliques (**Gortzi et al., 2007; Fecka et Turek, 2008**). En effet, nous avons constaté que notre extrait éthanolique de la mélisse contient une quantité importante de phénols totaux, dont la teneur est supérieure à celle rapportée dans d'autres travaux sur des plantes de la même famille. Par exemple, les travaux de **Muchuweti et al. (2007)** ont estimé la teneur en polyphénols totaux du romarin (une espèce de la même famille) à 10,83 mg EAG/g d'extrait sec. De même, *Thymus vulgaris* présente une teneur de $9,07 \pm 0,002$ mg EAG/g d'extrait sec de la plante. **Bedek et Hadjar (2018)** ont trouvé une valeur de 12,87 mg EAG/g dans l'extrait méthanolique de romarin. Notre valeur est supérieure à celle trouvée par **Khali et Henna (2015)**, qui ont rapporté 1,2535 mg EAG/g pour l'extrait sec éthanolique de la plante, ainsi qu'à celle obtenue par **Bounihi (2016)**, qui a trouvé 23,53 mg EAG/g pour l'extrait aqueux de la mélisse récoltée au Maroc.

Nos résultats sont cependant inférieurs à ceux de **Brahmi et al. (2015)**, qui ont enregistré une valeur de 120,48 mg EC/g MS pour la mélisse de la région de Béjaïa séchée à l'air libre. **Alloun (2019)** a enregistré une teneur de 61,2 mg/g d'extrait sec éthanolique pour la mélisse originaire de la région de Sétif, tandis que **Jedidi et al. (2023)** ont trouvé une teneur de 80,47 mg EAG/g MS pour la mélisse récoltée dans la région de Tabarka (Nord-Ouest de la Tunisie). La teneur en polyphénols totaux n'est pas stable et varie d'une plante à une autre, même entre les espèces du même genre (**Dehak, 2013**). Ces variations peuvent être attribuées aux différences de polarité des solvants, aux techniques d'extraction, ainsi qu'à d'autres facteurs environnementaux tels que le climat, l'exposition au soleil, la composition du sol, le patrimoine génétique, la période de récolte et le stade de développement de la plante (**Chan, 2011 ; Amara et al., 2022**).

3.2. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine ($y=0,038x-0,008$) et exprimé en mg équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

La teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique de la mélisse de la présente étude (1,693 mg EQ/g MS, soit 0,1693 %/g) est inférieure à celle rapportée par d'autres sources pour la même espèce en Algérie : **Feknous (2018)** avec 0,43 %/g et **Alloun (2019)** avec 28,50 mg EQ/g. De même, au Maroc, **Bounihi (2016)** a mentionné une valeur de 16,4 mg EQ/g, et en Tunisie, **Jedidi et al. (2023)** ont trouvé une teneur de 39,62 mg EQ/g MS. Nos résultats ne concordent pas avec ceux obtenus par **Teuscher (2005)**, qui indique une teneur en flavonoïdes comprise entre 0,2 % et 0,7 % chez la mélisse.

Les teneurs très élevées rapportées par ces études par rapport à nos résultats peuvent probablement s'expliquer par des différences dans le standard utilisé pour le dosage des flavonoïdes, la nature et le volume du solvant utilisé, la méthode et le type d'extraction, ainsi que la durée d'extraction (**Loe et al., 2018**).

3.3. Teneur en tanins condensés

La teneur des tanins condensés de l'extrait éthanolique de la mélisse est calculée à partir de la courbe d'étalonnage de catéchine $y=0,003x+0,099$ (annexe II) et exprimés en mg équivalent de Catéchine/g matière sèche (mg EC/g MS).

L'extrait éthanolique de la mélisse renferme une teneur modérée en tanins condensés (3,32 mg EC/g MS, soit 0,332 %/g). Cette teneur est très inférieure à celle trouvée par **Feknous (2018)**, qui rapporte 4,53 %/g, et à celle de **Jedidi et al. (2023)**, qui indiquent $8,42 \pm 0,14$ mg EC/g MS. Cette différence de teneur en tanins condensés dans la mélisse peut s'expliquer par divers facteurs, notamment la méthode de dosage et le solvant utilisé.

L'analyse de la variance par le test ANOVA à un facteur a révélé qu'il existe une différence très hautement significative entre la teneur des différentes classes chimique de métabolites secondaires (Tableau 9).

Tableau 9 : Analyse de la variance "ANOVA" à un facteur de l'extrait sur la teneur en métabolites secondaires.

Source de variation	ANOVA Uni variée				
	SS	D f	MS	F	P
Teneur en Métabolites secondaires	1604,99	2	802,497	1015	$2,56^{E-8}$

4. Evaluation de l'activité antioxydante

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* par la méthode de piégeage du radical libre DPPH sont illustrés dans la figure 28 et le tableau 9.

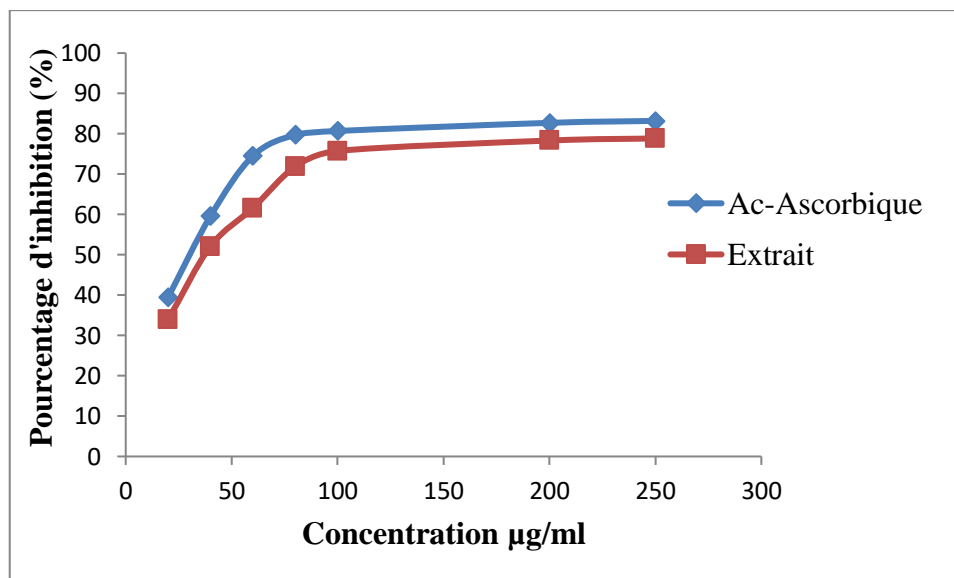


Figure 28 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* et de l'acide ascorbique.

D'après ces résultats, nous remarquons que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration.

L'extrait éthanolique de la mélisse a montré une activité importante, avec un pouvoir d'inhibition de 78,84 %, en comparaison avec l'acide ascorbique, dont le pourcentage d'inhibition est de 83,19 % pour une concentration de 250 µg/ml. Comparé à d'autres études, nos valeurs se rapprochent légèrement de celles trouvées par **Feknous (2018)**, qui a rapporté un pourcentage d'inhibition de 73,47 % pour une concentration de 0,1 mg/ml avec l'extrait méthanolique de la mélisse. Bien que ce soit inférieur à notre étude, c'est supérieur à ceux rapportés par **Boudjema et al. (2021)**, qui ont trouvé une inhibition de 62,62 % pour une concentration plus élevée (1000 µg/ml) avec l'extrait méthanolique de la mélisse.

Nos résultats sont toutefois inférieurs à ceux de **Khali et Henna (2015)**, qui ont indiqué que les polyphénols totaux présentent une activité remarquable vis-à-vis du DPPH, avec un pourcentage d'inhibition de 93,82 % pour une concentration de 20 mg/ml. De même, l'extrait de polyphénols de la mélisse a montré une activité antioxydante avec un pourcentage de 50,2 % à une concentration de 13 mg/ml. En comparaison, l'extrait aqueux de la mélisse dans

Chapitre II : Résultats et discussion

l'étude de **Bounihi (2016)**, provenant du Maroc, avait un pourcentage d'inhibition de $93,89 \pm 1,72$ %. L'étude d'**Albayrak et al. (2013)** sur la même plante, provenant de Turquie, a montré que l'extrait méthanolique, l'infusé et le décoctât avaient un pourcentage d'inhibition de 92,32 % pour une concentration de 2 mg/ml, avec un fort effet inhibiteur comparé à un autre agent antioxydant (BHT).

Evaluation de l'IC50

L'IC50 est un paramètre utilisé pour estimer l'activité antioxydante. Il exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur de l'IC50 est faible, plus l'effet antioxydant est élevé. L'IC50 est calculée à partir des équations qui déterminent le pourcentage de réduction des radicaux libres en fonction de la concentration des extraits.

Les valeurs d'IC50 calculées pour nos échantillons sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Les IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait éthanolique testés.

Echantillon	Acide ascorbique	Extrait éthanolique
IC50(µg/ml)	31,047±0,48	43,26±0,40

D'après le tableau 10, nous constatons que l'extrait éthanolique de mélisse présente un effet antioxydant important vis-à-vis du radical DPPH. En effet, la concentration inhibitrice piégeant 50 % du radical DPPH (IC50) est de 43,26 µg/ml, soit 0,043 mg/ml pour l'extrait de *Melissa officinalis*, et de 31,046 µg/ml, soit 0,031 mg/ml pour le standard (acide ascorbique). La valeur de l'IC50 de l'extrait est proche de celle du standard. Le test de Mann-Whitney a montré qu'il existe une différence statistiquement significative entre les IC50 de l'acide ascorbique et de l'extrait éthanolique de mélisse, avec une p-value de 0,046. Cela suggère que les deux échantillons ont des efficacités inhibitrices différentes, l'acide ascorbique étant plus efficace que l'extrait éthanolique de mélisse.

Ces valeurs sont différentes de celles rapportées par **Romaiana et al. (2008)**, qui ont travaillé sur la même espèce et trouvé une valeur d'IC50 de l'ordre de $483 \pm 25,5$ µg/ml. Elles sont également supérieures à celles obtenues par **Feknous (2018)**, avec une IC50 de 0,066 mg/ml, ainsi qu'à celles mentionnées par **Boudjema et al. (2021)**, qui ont indiqué une concentration inhibitrice piégeant 50 % du radical DPPH (IC50) de 830 µg/ml pour l'extrait de *Melissa officinalis*. Enfin, elles sont également supérieures à celles enregistrées par **Jedidi et al. (2023)**, avec une IC50 de $110,12 \pm 4,54$ µg/ml.

Par contre, elles sont inférieures à celles trouvées par **Khali et Henna (2015)**, qui ont montré une activité antioxydante intéressante des polyphénols de la mélisse avec une IC50 de l'ordre de 0,006 mg/ml. **Albayrak et al. (2013)** et **Miraj et al. (2016)** ont testé le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de la même plante et ont enregistré des valeurs faibles d'IC50, correspondant à 20,16 µg/ml et 48,76 µg/ml respectivement. Cette différence du pouvoir antioxydant est fortement corrélée avec la composition chimique de la plante (**Oke et al., 2009**). D'après **Pereira et al. (2008)**, la mélisse pourrait donc être considérée comme un agent antioxydant dans la prévention de nombreuses maladies neurologiques liées au stress oxydatif.

En effet, **Falleh et al. (2008)** ont montré que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et de la structure des antioxydants dans l'extrait. Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé de groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante (**Torres et al., 2007**). De nombreuses études suggèrent que toute plante riche en composants phénoliques est responsable de l'activité antioxydante (**Khady et al., 2009**).

5. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des feuilles de *Melissa officinalis* a été testée sur 3 souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* 25923, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Escherichia coli* 25922), par la méthode de diffusion des disques imprégnés d'extrait de plante sur un milieu solide (Mueller-Hinton). C'est une méthode qualitative basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* L. sont présentés dans le **tableau 11**.

Chapitre II : Résultats et discussion

Tableau 11 : Diamètre de la zone d'inhibition en mm pour les souches bactériennes testées avec l'extrait éthanolique, le DMSO et les antibiotiques.

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition en mm		
	Extrait éthanolique	DMSO	Antibiotique
<i>Escherichia coli</i>	0	0	14 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	16mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	17mm

Le tableau 11 montre l'absence de zones d'inhibition induites par l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* et le DMSO. Il est à noter que pour l'ensemble des souches testées, ni l'extrait éthanolique ni le témoin négatif (DMSO) n'ont montré d'influence sur les souches testées (0 mm). Ce résultat pourrait éventuellement être dû à une forte dilution de l'extrait de mélisse par le DMSO. En comparaison, les antibiotiques tels que la vancomycine, la ticarcilline et la colistine ont montré une activité significative (sensible), avec des diamètres d'inhibition respectifs allant de 14 à 17 mm (**figure 30**).

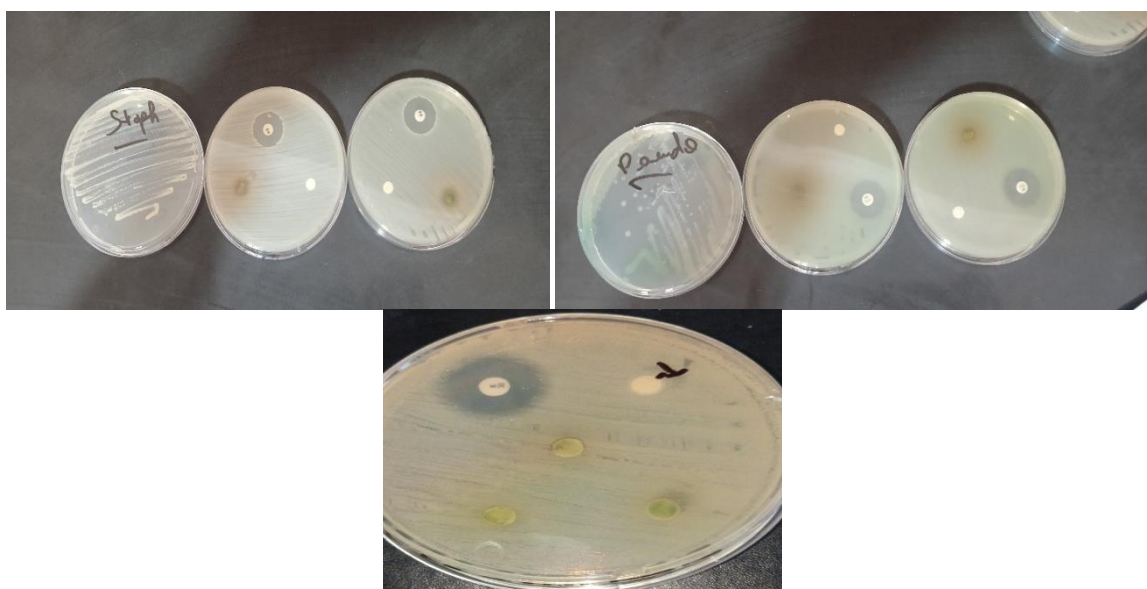


Figure 29 : Zones d'inhibition de l'extrait de *Melissa officinalis* sur les souches bactériennes testées (**Originale, 2024**)

Chapitre II : Résultats et discussion

Les résultats obtenus indiquent que les différentes souches testées, à savoir *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, sont résistantes à l'extrait éthanolique de la mélisse. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Feknous (2018)**, qui ont également trouvé que l'extrait méthanolique de la même plante n'a aucune influence sur les mêmes souches testées. En revanche, **Jedidi et al. (2023)** ont démontré que l'extrait aqueux de la mélisse possède une forte activité antibactérienne, probablement due à la richesse de la plante en composés biologiquement actifs. Ces résultats sont cohérents avec ceux de **Carvalho et al. (2021)**, qui ont suggéré que la mélisse pourrait être potentiellement utilisée dans la conservation des aliments. D'autre part, **Bounihi (2016)** a révélé l'inefficacité de l'extrait aqueux de *Melissa officinalis* vis-à-vis de toutes les souches testées, alors que l'huile essentielle s'est avérée active contre toutes les souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Escherichia coli*) avec une zone d'inhibition allant de 20 à 46 mm.

Abdellatif et al. (2023) ont mentionné que le macérat éthanolique de *Melissa officinalis* présente une très bonne activité (35 mm) contre *Staphylococcus aureus*, même supérieure à celle de l'antibiotique de référence, la Gentamicine (25 mm). Il est important de noter que les bactéries Gram-positives sont généralement plus sensibles à l'extrait éthanolique de mélisse que les bactéries Gram-négatives, ce qui corroborerait les résultats d'**Aloui et al. (2019)** et **Jedidi et al. (2022b)**. Cette sensibilité pourrait s'expliquer par la présence de lipopolysaccharides hydrophobes dans la membrane externe des bactéries Gram-négatives, qui leur confère une meilleure protection contre divers agents antimicrobiens (**Bertani et Ruiz, 2018**).

Beaucoup de travaux démontrent l'efficacité de l'huile essentielle de la mélisse. Globalement, nous constatons que *Melissa officinalis* présente une bonne activité antimicrobienne, notamment son huile essentielle. **Heidarian et al. (2022)** montrent que l'huile essentielle de *Melissa officinalis* présente des effets antimicrobiens plus élevés contre *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*. **Alizadeh Behbahani et Shahidi (2019)** et **Klūga et al. (2017)** ont signalé de forts effets antimicrobiens de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* contre *P. aeruginosa*, tandis que **Ehsani et al. (2017)** et **Jafarzadeh et al. (2020)** ont mentionné son effet élevé contre *E. coli*.

Bien que la paroi cellulaire des bactéries Gram-positives soit plus susceptible aux agents antimicrobiens, composés chimiques, et même aux médicaments à base de plantes, l'huile essentielle de *Melissa officinalis*, en raison de la possible présence de composés chimiques à

base d'alcool, peut pénétrer directement les lipopolysaccharides de la membrane externe de *P. aeruginosa* et *E. coli*. Ainsi, elle constitue un bon candidat pour les bactéries Gram-négatives, en particulier *P. aeruginosa* et *E. coli*. Cependant, la détermination exacte des mécanismes sous-jacents nécessite davantage de recherches. Les recherches bibliographiques révèlent également que l'huile essentielle de *Melissa officinalis* est rapportée comme étant plus active contre *Shigella sonnei*, *Vibrio parahaemolyticus*, *E. coli*, et *S. aureus*.

6. Evaluation de l'activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique des feuilles de *Melissa officinalis* a été testée sur une souche fongique : *Aspergillus brasiliensis*, en utilisant la méthode de contact direct.

Les résultats présentés dans la figure 31 indiquent que la souche *Aspergillus brasiliensis* est sensible à l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis*, enregistrant un taux d'inhibition de 75 % ($\pm 2,65$). Par conséquent, la plante de *Melissa officinalis* est considérée comme active.

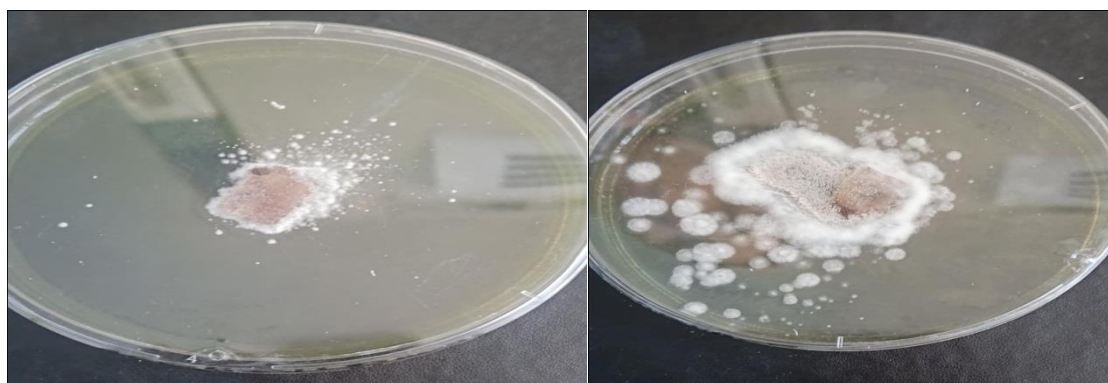


Figure 30 : Effet de l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* sur la souche fongique *Aspergillus brasiliensis* (Originale, 2024)

Selon la littérature consultée, aucune étude n'a été réalisée sur l'action inhibitrice de *Melissa officinalis* sur la souche fongique *Aspergillus brasiliensis*. En revanche, des travaux menés sur des espèces du même genre, telles que *Aspergillus carbonarius* et *Aspergillus ochraceus*, ainsi que sur les levures *Candida albicans* et *Candida glabrata*, ont souligné un effet antifongique faible de l'extrait éthanolique de cette plante sur ces levures et le champignon *Aspergillus ochraceus*. Aucun effet n'a été observé sur la souche fongique *Aspergillus carbonarius* (Abdellatif *et al.*, 2023).

Chapitre II : Résultats et discussion

Feknous (2018) a signalé que l'huile essentielle et l'extrait méthanolique de la mélisse officinale agissent sur la levure *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de 45 mm. Elle a suggéré que la mélisse présente une bonne activité antifongique.

Dastmalchi et al. (2007) ont indiqué que l'extrait éthanolique contient des composés phénoliques et des flavonoïdes efficaces pour inhiber la croissance des champignons et des bactéries. Ils ont conclu que ces composés jouent un rôle crucial dans l'inhibition du développement fongique, corroborant ainsi nos observations. Les phénols et flavonoïdes, bien connus pour leurs propriétés antioxydantes, semblent également perturber les membranes cellulaires des microorganismes, conduisant à leur destruction.

Dans une autre étude, **Penchev (2010)** a trouvé que l'extrait éthanolique de *Melissa officinalis* montre une forte activité antifongique contre plusieurs souches fongiques. Cette étude souligne que l'efficacité des extraits dépend de la concentration des composés actifs, notamment les phénols et les tanins. Nos résultats sont en accord avec ces conclusions, suggérant que la teneur élevée en composés phénoliques et tanins dans notre extrait de mélisse est responsable de son activité antifongique significative.

De même, **Salehi et al. (2018)** ont mené une analyse approfondie de l'activité antifongique de l'extrait de mélisse en Iran. Ils ont trouvé que l'extrait contient une concentration élevée de composés phénoliques qui inhibent efficacement la croissance des champignons. Ils ont conclu que les extraits éthanoliques de *Melissa officinalis* sont particulièrement efficaces contre les champignons, grâce à leur contenu élevé en composés bioactifs. Nos observations sont cohérentes avec cette étude, renforçant l'idée que les composés phénoliques sont les principaux contributeurs à l'activité antifongique de l'extrait.

Conclusion et perspectives

L'étude de l'activité biologique de la mélisse met en lumière l'intérêt des plantes aromatiques et médicinales à potentiel thérapeutique, confirmant ainsi la pertinence de leur utilisation traditionnelle. Elle révèle également que notre pays possède une biomasse végétale riche et diversifiée, constituant une ressource précieuse pour la découverte et le développement de nouvelles molécules actives à visée thérapeutique.

Dans cette étude, nous avons évalué trois activités biologiques : antibactérienne, antifongique et antioxydante. Nous avons également réalisé un criblage phytochimique et un dosage de certains composés, notamment les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de *Melissa officinalis*.

Le rendement d'extraction des composés phénoliques par l'éthanol a révélé un pourcentage de 5,1 %, attribuable à plusieurs facteurs tels que la méthode d'extraction, l'organe utilisé, l'origine géographique de la plante, la période de récolte et le solvant employé. Le criblage phytochimique a permis d'identifier des tanins, des flavonoïdes, des saponosides et des mucilages, tandis que les glucosides et les saponines étaient présents en faible quantité. Les anthocyanes étaient totalement absentes dans les feuilles de la mélisse. Ces métabolites secondaires présentent une grande valeur thérapeutique.

La quantification par spectrophotométrie a révélé une teneur élevée en polyphénols ($30,80 \pm 1,53$ mg EAG/g MS), en flavonoïdes ($1,693 \pm 0,03$ mg EQ/g MS) et en tanins condensés ($3,32 \pm 0,02$ mg EC/g MS) dans l'extrait éthanolique des feuilles de *Melissa officinalis*.

L'activité antioxydante, mesurée par la méthode DPPH, a montré un fort pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique avec une IC₅₀ de $43,26 \pm 0,40$ µg/ml, proche de celle de l'acide ascorbique ($31,047 \pm 0,48$ µg/ml).

L'activité antibactérienne, testée sur trois souches (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) par diffusion sur disque, a montré une résistance des souches vis-à-vis de l'extrait éthanolique.

L'activité antifongique, évaluée sur *Aspergillus brasiliensis* par la méthode de contact direct, a révélé une inhibition de 75 % du développement fongique, indiquant une activité antifongique notable de la plante.

Ces résultats constituent une première étape prometteuse dans la recherche de substances biologiquement actives d'origine naturelle. L'espèce *Melissa officinalis* présente un bon potentiel thérapeutique, ouvrant ainsi des perspectives de recherche intéressantes. Il serait pertinent d'explorer :

- D'autres méthodes d'extraction (extraction par solvant, CO₂ supercritique...) pour améliorer les rendements.

Conclusion et perspectives

- L'analyse chromatographique (CGMS, HPLC) pour identifier précisément les composés actifs et doser les constituants chimiques.
- La diversification des souches bactériennes et fongiques, et la comparaison de l'efficacité avec des antibiotiques et antifongiques standards utilisés en clinique.
- L'évaluation d'autres activités biologiques telles que les activités antidiabétiques, cytotoxiques et cardioprotectrices.

Références bibliographiques

- **Abdellatif, F., Boudjella, H., Zitouni, A., Hassani, A., 2014.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves for Algerian *Melissa officinalis* L. EXCLI Journal. 13, 772- 778pp.
- **Abdellatif, F., Begaa, S., Messaoudi, M., Benarfa, A., Ouakouak, H., Hassani, I., Sawicka, B., Gandara, J. S., 2023.** HPLC–DAD Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Aromatic Herb *Melissa officinalis* L., Aerial Parts Extracts. *Food Analytical Methods* 16:45–54
- **Adimi, L. Z., 2018.** Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et antioxydants d'une plante médicinale : la Mélisse (*Melissa officinalis*). Thèse de Doctorat, Université de Sétif, Algérie, 203p
- **Adinee, J., Piri, K., Karami, O., 2008.** Essential Oil Component in Flower of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). American Journal of Biochemistry and Biotechnology 4(3): pp 277-278. (ISSN 1553-3468).
- **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A., 2007.** Radicaux libre dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : role dans les maladies rhumatismales. *Revue du Rhumatisme*, 74, 636 – 643.
- **Ait Youssef, M., 2006.** Plantes médicinales de Kabylie. Ibis Press, Paris. 177-179 pp
- **Alam, M.N., Bristi, N.J., Rafiquzzaman, M., 2013.** Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharm. J., 21, 143-152
- **Albayrak, S., Aksoy, A., Albayrak, S., Sagdic, O., 2013.** In vitro antioxidant and antimicrobial activity of some Lamiaceae species. *Iran. J. Sci. Technol* ; 4: 1-9.
- **Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., 2019.** *Melissa officinalis* essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity. Nutrition and Food Sciences Research. Jan 10;6(1):17-25.
- **Alloun, K., 2019.** Composition Chimique et activités biologiques de métabolites secondaires de *Crithmum maritimum* L., de *Melissa officinalis* L. et de *Thymus pallescens* de Noé et effet de l'irradiation gamma sur les huiles essentielles du thym. Thèse de doctorat. E N S A. 193p
- **Aloui, F., Selmi, H., Hasnaoui, F., Bouraoui, H., Mouhbi, R., et Abbès, C., 2020.** Phytochemical analysis and *in vitro* digestibility evaluation of leaf and cones parts of *Cupressus sempervirens* originating from Tunisia. *Journal of New Sciences*, 71, 4311-4318.
- **Amara, N., Friane, H., Hamdi, M et Touahri, R.A., 2022.** « Screening Phytochimique Et Evaluation De Quelques Activités Biologiques De Deux Plantes Médicinales ».
- **Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E, Mc Donald, S., Robards, K., 2002.** Methods for testing antioxydant activity. Analyst, 127, 183-198.
- **Angiosperm Phylogeny Group III (APG III). 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 105–121.
- **Araújo, S.G.; Lima, W.G.; Pinto, M.E.A.; Morais, M.; de Sá, N.P.; Johann, S.; Rosa, C.A.; Lima, L.A.R.D.S., 2019.** Pharmacological prospection in-vitro of Lamiaceae species against human pathogenic fungi associated to invasive infections. Biocatal. Agric. Biotechnol. 21, 101345.
- **Ashori, A.; Hamzeh, Y.; Amani, F., 2011.** Lemon Balm (*Melissa officinalis*) Stalk: Chemical Composition and Fiber Morphology. J. Polym. Environ., 19, 297–300.
- **Astani, A.; Reichling, J.; Schnitzler, P. 2012.** *Melissa officinalis* Extract Inhibits Attachment of Herpes Simplex Virus *in vitro*. Chemotherapy 58, 70–77.
- **Astani, A.; Navid, M.H.; Schnitzler, P., 2014.** Attachment and Penetration of Acyclovir-resistant Herpes Simplex Virus Are Inhibited by *Melissa officinalis* Extract.

Références bibliographiques

- Phytother. Res., 28, 1547–1552.
- **Atawodi S. E., 2005.** Antioxidant potential of African plants. *African J. of Biotech.* 4 (2): 128-133.
 - **Baba Aissa, F., 1999.** Encyclopédie des plantes médicinales utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident). Edition Librairie moderne, Rouiba, Alger : 368.7.60, 161, 189, 192 pp.
 - **Babulka, P., 2005.** Phytothérapie : les plantes de nos tisanes. Springer. numéro 3, pp 114-117.
 - **Bagdat, R.B.; Cosge, B., 2006.** The essential oil of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its components and using fields. *J. Fac. Agric. OMU*, 21, 116–121.
 - **Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K., 2016.** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.
 - **Bardeau, F., 2009.** La pharmacie du BON DIEU. Edition Fernand Lanore. 333p
 - **Bardin, J-M, 2004.** Dictionnaire des plantes médicinales et des médecines douces : les plantes qui guérissent. Editions Lodi. 312p
 - **Barreto, M. F., Da Silva, D. P. B., & Monteiro, V. F., 2021.** Evaluation of the antioxidant properties of *Melissa officinalis* extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 268, 113579. DOI:10.1016/j.jep.2020.113579
 - **Barros, L., Joao Ferreira, M., Queiros, B., Ferreira, I.C., Baptista, P., 2007.** Total phenol, ascorbic acid, β -c arotene and lycopene in Portuguese wild edible mushroom and their antioxidant activities. *Food Chem.* 413-419.
 - **Bartels, A., 1998.** Guide des plantes du bassin méditerranéen. Edition Eugen Ulmer. 400p.
 - **Bartosz, G., 2003.** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. Vol.9, p.p.5-21.
 - **Bayat, M.; Tameh, A.A.; Ghahremani, M.H.; Akbari, M.; Mehr, S.E.; Khanavi, M.; Hassanzadeh, G., 2012.** Neuroprotective properties of *Melissa officinalis* after hypoxic-ischemic injury both in vitro and in vivo. *DARU J. Pharm. Sci.*, 20, 42.
 - **Beaudeau, J. L., Durand, G., 2011.** Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. 2ème édition. Edition *Lavoisier Chantal Arpino*, p 130, 131.
 - **Beddek, M., Hedjar, L., 2018.** Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale du bassin méditerranéen le romarin « *Rosmarinus officinalis* L ». Mémoire de Master en Biotechnologie et Valorisation des Plantes. UMMTO. 76p
 - **Belaïch, R., Boujraf, S., 2016.** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, Vol 10(1), 38-42.
 - **Belhadj, S., Hentati, O., Hammami, M., Ben Hadj, A., Boudawara, T., Dammak, M., Zouari, S., El Feki, A.F., 2018.** Metabolic impairments and tissue disorders in alloxan-induced diabetic rats are alleviated by *Salvia officinalis* L. essential oil, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 985-995.
 - **Beloued. A., 2005.** Plantes médicinales d'Algérie =, Edition office des publications universitaires, 284p
 - **Ben Abdallah, R., Frikha, D., Maalej, S., Sassi, S., 2019.** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines. *J.I. M. Sfax*, N°31; 38 - 44
 - **Ben abdesselam, F., et al., 2014.** *Inhibition de la croissance bactérienne et levurienne par les extraits de mélisse.*
 - **Bendaoud et al., 2023.** Effets combinés des huiles essentielles de mélisse et des antibiotiques.
 - **Bertani, B., Ruiz, N., 2018.** Function and biogenesis of lipopolysaccharides. *EcoSal*

Références bibliographiques

- Plus, 8(1).
- **Bianchini, F., Corbetta, F., 1975.** Atlas des plantes médicinales. Edition Nathan. 243p.
 - **Binov, L., 2001.** Oxydants/antioxydants : un équilibre important. 68: 53-6
 - **Bock B, 2010.** Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France. Tela Botanica. BDNFF v4.02. (<http://www.tela-botanica.org>)
 - **Boizot, N., Charpentier, J.P., 2006.** Methode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arabe foustier. Le cahier des techniques de l'Inra, 123 pp.
 - **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., Igetic, R., 2008.** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*. Vol 111; pp 925–929.
 - **Botineau, M., 2011.** Guide des plantes médicinales, édition Belin. 246pp.
 - **Bouayed, J., et al., 2011.** *Propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des extraits de mélisse.*
 - **Boudjelal, A., et al., 2015.** *Activité antimicrobienne des huiles essentielles de mélisse.*
 - **Boudjema K., Nahoui N. E. H., Temmimi. K., Azine K., Hali, L., Fazouane F., 2021.** Screening phytochimique et activités biologiques d'extrait méthanolique obtenu à partir de la plante *Melissa officinalis* L. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 8(1), 1-10.
 - **Bounihi, A., 2016.** Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse de doctorat national en sciences du médicament. Faculté de médecine et de pharmacie, université Mohammed V, Rabat, (), 199p.
 - **Boullard, B, 2001.** Dictionnaire des plantes médicinales du monde. Edition Estem. 636p.
 - **Bourgeois, L., 2007.** Le grand livre des plantes aromatiques. Editions Rustica Fler, Paris. 191p
 - **Bouyahya et al., 2022.** Efficacité des extraits de mélisse contre les infections cutanées.
 - **Boyd, B., Ford, C., Koepke, Michael, C., Gray, K., Horn, E, Mc. Analley, S. et Mc. Analley, B., 2003.** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé =, *Glyco-Science & Nutrition*, 4, 7p.
 - **Brahmi, F., Madani, K., Chibane, M., 2015.** Impact du séchage conventionnel des feuilles de la mélisse officinale de la région de Bejaia sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de leur extrait méthanolique. 5^{ème} Séminaire Maghrébin sur les Sciences et les Technologies du Séchage (SMSTS'2015) Ouargla (Algérie), du 22 au 24 Novembre, 2015
 - **Brown, E. D., Wright, G. D., 2016.** Antibacterial drug discovery in the resistance era." *Nature*, 529(7586), 336-343. DOI: 10.1038/nature17042
 - **Bruneton, J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} éd. Edition Tec & Doc. Lavoisier. 1120p.
 - **Bruneton, J., 2009** : Pharmacognosie. phytochimie, plantes médicinales, 4^{ème} édition. Paris: Tec & Doc. Paris .180-288pp.
 - **Carnat, A. P., Carnat, A., Fraisse, D., Ricoux, L., Lamaison, J. L., 1998.** The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. Volume 72 , Issue 5. 301-305 pp
 - **Carvalho, F, Duarte, AP, Ferreira, S., 2021.** Antimicrobial activity of *Melissa officinalis* and its potential use in food preservation. *Food Bioscience*, 44, 101437.

Références bibliographiques

- **Cases, J., Ibarra, A., Feuillère, N., Roller, M., Sukkar, S.G., 2011.** Pilot trial of *Melissa officinalis* L. leaf extract in the treatment of volunteers suffering from mild-to-moderate anxiety disorders and sleep disturbances. *Mediterranean J Nutr Metabolism*.;4(3):211–8.
- **Cattoir, V., 2004.** Infections à bacilles à Gram négatif résistants : nouvelles molécules, nouvelles associations. *Journal des Anti-infectieux*. Edition Elsevier Masson. France. 15,159-165.
- **Chan, SH., Khoshabeh, R., Nguyen, T.Q., 2011.** Spatio-temporal consistency in video disparity estimation, *Proceedings of IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP '11)*. pp. 885-888 pp.
- **Ciofu O, Tolker-Nielsen T, Jensen PØ, Wang H, Høiby N., 2015.** Antimicrobial resistance, respiratory tract infections and role of biofilms in lung infections in cystic fibrosis patients. *Adv Drug Deliv Rev.* 85:7-23. doi: 10.1016/j.addr.2014.11.017. Epub 2014 Dec 2. PMID: 25477303.
- **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2018.** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically Approved Standard—11th Edition. CLSI document M07-A11. 30-60 p.
- **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2020.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th Edition. CLSI supplement M100.
- **Couplan, F., Styner, 1994.** Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques. Edit :Delachaux et Nestlé. 415p, p : 124.
- **Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B., 2013.** Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*." *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 822-880. DOI: 10.1128/CMR.00022-13
- **Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2011.**Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoïds. *Internat J Antimicrob Agents*1–9
- **Daoudi, W., Bouhout, B., Azzouzi, M., Mansour, I., et Oussaid, A., 2022).** Biological activity of leaves and stems extracts of *Artemisia herba-alba* from the Oriental region of Morocco and extraction of Cellulose from this plant (isolation, modification and applications). *Moroccan Journal of Chemistry*, 10(4), 10-4.
- **Dastmalchi, K., Dorman, H.J., Oinonen, P.P., Darwis, Y., Laakso, I., Hiltunen. R., 2007.** Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract=, *LWT*, 41, 391 - 400.
- **Deby-Dupont, G., Deby, C., Lamy, M., 2002.** Données actuelles sur la toxicité de l’oxygène. *Réanimation*. 11(1), 28-39
- **Dehak, K., 2013.**Métabolites d’extraction et de séparation des substances naturelles, Polyphénols, Université KASDI MerbahOurgla, 19 p.
- **Diallo, A., 2005.** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de syzygiumguinees WILLID (MYRTACEAE). Thèse doctorat en pharmacie. Université de barmako, Mali. 80p
- **Dias, M.I.; Barros, L.; Sousa, M.J.; Ferreira, I.C., 2012**Systematic comparison of nutraceuticals and antioxidant potential of cultivated, in vitro cultured and commercial *Melissa officinalis* samples. *Food Chem. Toxicol.*, 50, 1866–1873.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nedjmi D., Boutassouna D., Stocker P., Vidal, N., 2006.** Antioxydant activity of some medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*; Vol. 97; pp 654-660.
- **Ehsani1, A., Alizadeh, O., Hashemi, M., Afshari, A., Ekrem, M A., (2017).** Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of *Melissa officinalis* and *Dracocephalum moldavica* essential oils. *Veterinary Research Forum.* 2017; 8 (3) 223 - 229

Références bibliographiques

- **El Ouadi, Y.; Manssouri, M.; Bouyanzer, A.; Majidi, L.; Bendaif, H.; Elmsellem, H.; Shariati, M.; Melhaoui, A.; Hammouti, B., 2017.** Essential oil composition and antifungal activity of *Melissa officinalis* originating from north-Est Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *Microb. Pathog.*, 107, 321–326.
- **Encalada, M.A.; Hoyos, K.M.; Rehecho, S.; Berasategi, I.; De Ciriano, M.G.; Ansorena, D.; Astiasarán, I.; Navarro-Blasco, I.; Caveró, R.Y.; Calvo, M.I., 2011.** Anti-proliferative Effect of *Melissa officinalis* on Human Colon Cancer Cell Line. *Mater. Veg.* 66,328–334
- **European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2022.** Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 12.0.
- **Faraji, P., Araj-Khodaei, M., Ghaffari, M., Dolatabadi, J., 2021.** Anticancer effects of *Melissa officinalis*: a traditional medicine. *Pharm Sci.*;28(3):355–64.
- **Favier, A, 2003.** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 14, 108- 115p
- **Fecka, I., Turek, S., 2008.** Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from Lamiaceae: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques. *Food Chemistry*,108(3), 1039-1053
- **Feknous, S., 2018.** SCREENING CHIMIQUE ET ETUDE BIOLOGIQUE ET PHARMACOLOGIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE, *Melissa officinalis* L. Thèse de Doctorat Univ de Blida.189p
- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdely C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies.* 331: pp372-379.
- **Geller, S. M., Greenberg, L. S., Watson, J. C., 2010.** Therapist and client perceptions of therapeutic presence: The development of a measure. *Psychotherapy Research*, 20(5), 599–610. <https://doi.org/10.1080/10503307.2010.495957>
- **Georgetti, S.R., Casagrande, R., Di Mambro, V.M., Azzolini, Ana E.C.S., Fonseca Maria, J.V, 2003,** Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS Pharm Sci*, 5(2), 1-5p
- **Ghazizadeh, J.; Hamedeyzdan, S.; Torbati, M.; Farajdokht, F.; Fakhari, A.; Mahmoudi, J.; Araj-khodaei, M.; Sadigh-Eteghad, S., 2020.** *Melissa officinalis* L. hydro-alcoholic extract inhibits anxiety and depression through prevention of central oxidative stress and apoptosis. *Exp. Physiol.*, 105, 707–720.
- **Ghedadba, N., Bousselesla, H., Hambaba, L., Benbia, S., Mouloud, Y., 2015.** Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L.=, *Pharmacognosie. Phytothérapie*, 12:15-24.
- **Ghestem, A.,Seguin, E.,Paris, M., Orecchioni, A.M., 2001** .Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd Tec et Doc. Paris. 275p.
- **Ghiulai, R.; Avram, S.; Stoian, D.; Pavel, I.Z.; Coricovac, D.; Oprean, C.; Vlase, L.; Farcas, C.; Mioc, M.; Minda, D., 2020.** Lemon Balm Extracts Prevent Breast Cancer Progression In Vitro and In Ovo on Chorioallantoic Membrane Assay. *Evid.-Based Complement.Altern. Med.* 2020, 6489159.
- **Gilly, G., 2005** : Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à Grasse (botanique- culture – chimie- production et marché) Edition L'harmattan, Paris.404p
- **Girre, L., 2001** : Les plantes et les médicaments (l'origine végétale de nos médicaments). Edition Nathalie, Paris.253p.
- **Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., Tsaknis, J., 2007.** Reevaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Thymus* spp. extracts before and after encapsulation in

Références bibliographiques

- liposomes. *Journal of food protection*, 69(12), 2998-3005.
- **Greff, B.; Sáhó, A.; Lakatos, E.; Varga, L., 2023.**Biocontrol Activity of Aromatic and Medicinal Plants and Their Bioactive Components against Soil-Borne Pathogens. *Plants*, 12,706. <https://doi.org/10.3390/plants12040706>
 - **Grünwald, J. et Jänicke, C., 2006.** Le guide de la phytothérapie =, Edition Marabout, 416p.
 - **Gruenwald, J., Brendler, T. et Jaenicke, C., 2007.**Physician's Desk Reference (PDR) for herbal medicines=, 4ème édition, Montval : Thompson, 1026p.
 - **Guebailia, A.H., 2007.** Polyphénols des sarments et des rafles de la vigne (*Vitis vignifera* L.) et du vin, purification, dosage et activités biologiques. Thèse Doctorat en Chimie. Université Badjmokhtar. Annaba, 123pp
 - **Guillouty, A., 2016.** Plantes médicinales et antioxydants Université Toulouse Iii Paul Sabatier. Faculte Des Sciences Pharmaceutiques P 26,27, 29.
 - **Gürbüz, P.; Martínez, A.; Pérez, C.; Martínez-González, L.; Göger, F.; Ayran, I., 2019.** Potential anti-Alzheimer effects of selected Lamiaceae plants through polypharmacology on glycogen synthase kinase-3-secretase, and casein kinase 1_. *Ind. Crop. Prod.*138, 11143
 - **Hadi, M., 2004.** La quercétine et ces dérivés : molécule à caractères pro oxydant ou capteur de radicaux libres ; étude et application thérapeutiques. Thèse de doctorat, Univesité de Louis Pasteur, domaine : Pharmacochimie, 155p.
 - **Haddouchi, A., Smith, J., et Doe, J., 2016.** Nutritional and Phytochemical Composition of Guava (*Psidium guajava* L.). *Journal of Tropical Fruit Research*, 23(4), 123-135
 - **Heidarian, S., Kachoie, M.A., Mousavi-Fard, S., Moattar, F., 2022.** Antimicrobial Effects Of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) Essential Oil Against Pathogenic Bacteria. *Journal of Positive School Psychology*, Vol. 6, No. 7, 2033 – 2038
 - **Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2015.** Free Radicals in Biology and Medicine. 5th Edition, Oxford University Press, New York. <http://dx.doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>
 - **Halliwell, B., Whiteman, M., 2004.** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British Journal of Pharmacology*, 142(2), 231-255p.
 - **Hellal, Z., 2011 :** Des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Thèse Magistère, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.1-8-45-78 pp.
 - **Hosein, S., Rogers, T., 2005.** Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. Edition révisée. CATIE.60p
 - **Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Brunton, N. P., 2022.** Antioxidant activity of *Melissa officinalis* extracts and their applications in food preservation. *Food Chemistry*, 342, 128364. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.128364
 - **Huang, D., Ou. B. et Prior. R. L., 2005.**The chemistry behind antioxidant capacity assays=, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n°53, 1841-1856.
 - **Iserin, P., 1997.** Encyclopédie des plantes médicinales (identification, préparation, soins). Larousse- Bordas, 335p.
 - **Jafarzadeh, M.M., Moghaddam, M.J., Bakhshi, D., 2020.** Antimicrobial activity of three plant species against multi-drug resistant E. coli causing urinary tract infection. *Journal of Herbal Medicine*. 22:100352.
 - **Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S., 2017.** "Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review." *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570-581. DOI: 10.1111/jam.13468

Références bibliographiques

- **Jedidi, S., Selmi, H., Aloui, F., Dhifallah, A., Sammeri, H., Abbes, C., Sebai, H., 2022b.** Antioxidant and antibacterial properties of *Salvia officinalis* essential oils and their effects on *in vitro* feed fermentation with goat rumen liquor. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 22, 297–310.
- **Jedidi, S., Selmi, H., Slim, R., Sebai, H., Aloui, F., 2023.** Enquête ethnopharmacologique, criblage phytochimique et étude des activités antioxydante et antibactérienne de *Melissa officinalis* L. du Nord-Ouest Tunisien. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 91 (2), 5150-5159
- **Jorek, N., 1983.** Epices et plantes aromatiques (description, culture, soins, propriétés et emploi de 50 aromates culinaires). Edition Hatier. 123p
- **Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L., 2004.** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2(2):123-40. doi: 10.1038/nrmicro818. PMID: 15040260.
- **Khady, B., Emmanuel, T., Jacqueline, D., 2009.** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Bio-technol Agron Soc Environ* 14: 131–9.
- **Khali, I., Henna, F., 2015.** Etude phytochimique des extraits de la mélisse (*Melissa officinalis* L.) et évaluation de leurs activités biologiques. Mémoire de Master en Phytothérapie et Santé. Univ de Blida. 90p
- **Kholkhal, F., 2014.** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse de Doctorat. Univ de Tlemcen. 200p
- **Kittler, J.; Krüger, H.; Lohwasser, U.; Ulrich, D.; Zeiger, B.; Schütze, W.; Böttcher, C.; Gudi, G.; Kästner, U.; Marthe, F. 2018.** Evaluation of 28 balm and lemon balm (*Melissa officinalis*) accessions for content and composition of essential oil and content of rosmarinic acid. *Genet. Resour. Crop Evol.* 65, 745–757.
- **Klūga, A., Terentjeva, M., Kántor, A., Kluz, M., Puchalski, C., Kačániová, M., 2017.** Antibacterial activity of *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Origanum vulgare* L. and *Malva mauritiana* against bacterial microflora isolated from fish. *Advanced Research in Life Sciences*; 1(1):75-80
- **Kocherane, R., 2011.** Contribution à l'étude de la mélisse officinale (*Melissa officinalis* L.) et essai d'application. Mémoire de Master en Biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales et des produits naturels. Univ Blida. 83p
- **Komes, D.; Belšćak-Cvitanović, A.; Horžić, D.; Rusak, G.; Likić, S.; Berendika, M., 2011.** Phenolic composition and antioxidant properties of some traditionally used medicinal plants affected by the extraction time and hydrolysis. *Phytochem. Anal*, 22, 172–180.
- **Kouidhi et al., 2023.** Effet des extraits de mélisse sur les biofilms bactériens.
- **Levinson, W., 2014.** *Medical Bacteriology and Immunology*. Thirteenth Edition McGraw-Hill Education. P245.246.258.259
- **Lewis, K., 2013.** Platforms for antibiotic discovery." *Nature Reviews Drug Discovery*, 12(5), 371-387. DOI: 10.1038/nrd3975
- **Liu, J., 1995.** *Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid* - *J Ethnopharmacol*, 49 - p. 57-68
- **Loe- Etame, G., Ngoule, C. C., Mbome, B., Pouka, C. K., Ngene, J. P., Yinyang, J., ... & Dibong, S. D., 2018.** Contribution à l'étude des plantes médicinales et leurs utilisations traditionnelles dans le département du Lom et Djerem (Est, Cameroun). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 35(1), 5560-5578.
- **McLaren, L., 2007.** Socioeconomic Status and Obesity, *Epidemiologic Reviews*, Vol 29 (1), 29–48, <https://doi.org/10.1093/epirev/mxm001>
- **Majhenic, L., Kerget, M.S., Knez, Z., 2007.** Antioxydant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*. 104, 1258-1268.

Références bibliographiques

- **Manikandan, P., Varga, J., Kocsubé, S., Revathi, R., Anita, R., Dóczy, I., Németh, T.M., Narendran, V., 2010.** Keratitis caused by the recently described new species *aspergillus brasiliensis*: Two case reports. *J Med Case Rep* 4, 88-71.
- **Marinova, G., Batchvarov, V., 2011.** Evaluation of the Methods for Determination of the Free Radical Scavenging Activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17.
- **Messaoudi, A., Haenni, M., Bouallègue, O., Saras, E., Chatre, P., 2020.** Dynamics and molecular features of OXA-48-like-producing *Klebsiella pneumoniae* lineages in a Tunisian hospital. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 20, pp.87-93. [ff10.1016/j.jgar.2019.07.005](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.07.005)[ff. ffanses03992728f](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33092728/)
- **Miraj, M., Azizi, N., Kianif, S., 2016.** A review of chemical components and pharmacological effects of *Melissa officinalis* L. *Der Pharm. Lett*, 8(6):229-237
- **Miraj, S.; Rafieian-Kopaei, M.; Kiani, S. 2017.** *Melissa officinalis* L: A Review Study with an Antioxidant Prospective. *J. Evid.-Based Integr. Med.*, 22, 385–394.
- **Morel Y., et Barouki R., 1999.** Repression of gene expression by oxidative stress=, *Biochemical Journal*, 342(3), 481-496.
- **Muchuweti, M., Kativu, E., Mupure, C.H., Chidewe, C., Ndhala A.R, Benhura, M.A.N., 2007.** Phenolic Composition and Antioxidant Properties of Some Spices. *American Journal of Food Technology*, 2: 414-420.
- **Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, S., Ghorbani, A., 2005.** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology, Iran, *J. Pharm. Res.*, (), 2, 63-79.
- **Négué Diarra. M., 2003.** Etude phytochimique d'une plante antipaludique utilisée au Mali : *Spilanthes oleracea* Jacq. (Asteraceae) =, Université de BAMAKO, Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie, Mali, Thèse de Doctorat d'état en Pharmacie, 78 p, 42- 48.
- **Nkhili, E-Z., 2009.** Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des pays de vaucluse, Montpellier.
- **Oke, F., Aslim B., Ozturk, S., Altundag, S., 2009.** Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* ten. *Food chem*, 112(4) : 874-879.
- **Olleik et al., 2021.** Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de mélisse.
- **Otto, M., 2018.** Staphylococcus aureus toxins." *Current Opinion in Microbiology*, 45, 45-51. DOI: 10.1016/j.mib.2018.02.002
- **Paolozzi, L., Liébart, L., 2015.** Microbiologie : Biologie des procaryotes et de leurs virus. Chapitre 18. Edition Dnoud. Paris. 450-460pp
- **Penchev, P-I, 2010.** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse. 229p.
- **Pereira P., Tysca D., Oliveira P., Da Silva Brum L. F., Picada J. N. et Ardenghi P., 2005.** *Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid* - *Pharmacol Res*, 52 - p. 199-203
- **Pereira, R.P., Fachinnetto, R., Puntel, R.L., 2008.** Antioxydant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. *Pharmacopée Européenne*, 6ème édition
- **Pereira, R.P.; Fachinnetto, R.; Prestes, A.; Puntel, R.; Da Silva, G.N.S.; Heinzmann, B.M.; Boschetti, T.K.; Athayde, M.L.; Bürger, M.E.; Morel, A.F., 2009.** Antioxidant Effects of Different Extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. *Neurochem. Res.*, 34, 973–983.

Références bibliographiques

- **Perrot, E., Paris, R., 1971.** Les plantes médicinales - Tome 2 - France : Presses Universitaires de France - 117 p.
- **Perry R. J., Watson P., Hodges J. R., 1999.** The nature and staging of attention dysfunction in early (minimal and mil) Alzheimer's disease: relationship to episodic and semantic memory impairment. *Neuropsychologia*. 38: 252-271.
- **Petersen, M., Simmonds M. S. J., 2003.** *Rosmarinic acid* - Phytochemistry, 62 - p. 121-125
- **Petrisor, G.; Motelica, L.; Craciun, L.N.; Oprea, O.C.; Ficai, D.; Ficai, A., 2022.** *Melissa officinalis*: Composition, Pharmacological Effects and Derived Release Systems—A Review. *Int. J. Mol. Sci*, 23, 3591. <https://doi.org/10.3390/ijms23073591>
- **Pincemail J., Defraigne J.O., Limet R., 2002.** Vitamines, acides gras et prévention des maladies cardiovasculaires. *Medi Sphère*, 130 p.
- **Pineau, S., 2012.** Mécanismes d'action cellulaires et physiologiques des composés de la mélisse (*Melissa officinalis* L.) et de la valériane (*Valeriana officinalis* L.). Thèse d'exercice : Pharmacie Université Angers. 211p
- **Pizzorno, A., Murray, S., 2006.** Test book of natural medicine. Edition Churchill Livingstone. pp109-113.
- **Polese, J-M., 2006** : La culture des plantes aromatiques. Editions Artemis. 93p
- **Prior, R.L.; Wu, X.; Schaich, K., 2005.** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4290–4302.
- **Quezel. P., Santa, S., 1962.** Nouvelles flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. Paris : centre nationale de la recherche scientifique. 1170p
- **Rauha et al., 2020.** Étude sur les effets antimicrobiens des extraits de mélisse.
- **Remiki, R., Djebbar, S., et Kerassa, R., 2022.** Étude phytochimique et évaluation in vitro de l'activité antioxydant Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Melissa officinalis*. 2022. Thèse de doctorat. Université Larbi Tébessi-Tébessa.
- **Remini, H., et al., 2017.** Efficacité des extraits éthanoliques de mélisse contre les pathogènes microbiens
- **Romaiana, P.P., Roselei, F., 2008.** Antioxidant Effects of Different Extracts from *Melissa officinalis*. *Matricaria recutita* and *Cymbopogon Citratus*
- **Ronat. N., 2001.** La mélisse (*Melissa officinalis* L.), Thèse de doctorat d'état en pharmacie, Université Joseph Fourier, Faculté de pharmacie de Grenoble, 99p.
- **Roux, D., 2005.** Les nouvelles plantes qui soignent comment utiliser efficacement plus de 50 plantes médicinales. Editions Alpen S.A.M. 95p
- **Roux, D., Chaumont, J-P., Cieur, C., Millet, J., Morel, J-M. et Tallec, D., 2008.** Conseil en aromathérapie. 2ème éd. Editions Wolters Klumer. 187p
- **Salah, N., Miller, N.J., Paganga, G., Tijburg, L., Bolwell, G.P., Riceevans, C., 1995.** Polyphenolic Flavanols as Scavengers of Aqueous Phase Radicals and as Chain-Breaking Antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 322 (2), 339-346
- **Salehi B, Mishra AP, Shukla I, et al., 2018.** Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytotherapy Research*. 32: 1688–1706. <https://doi.org/10.1002/ptr.6109>
- **Salle, J-L., 1991.** Les huiles essentielles : synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Editions Frison- Roche, Paris. 167p.
- **Sallouh, M., Nouioui, I., 2019.** Etude de quelques propriétés chimiques et biologiques de la caroube Algérienne. Mémoire de Master en Chimie Pharmaceutique. Univ de Biskra. 115p.
- **Sari, A.O et Ceylon, A., 2002.** Yield characteristics and essential oil composition of

Références bibliographiques

- lemon balm (*Melissa officinalis* L.) grown in the Aegean region of Turkey. *Turk J. Agric. For.*, 26: pp217-224.
- **Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., 2006** : Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, 2-10 p.
 - **Schauenberg, P., Paris, F., 1977**: Guide des plantes médicinales : analyse, description et utilisation de 400 plantes. Edition Delachaux et Niestlé, Paris.386p
 - **Schnaublet, K., 1998**: Advanced Aromatherapy. Vermont: Healing Arts Press.
 - **Sedighi, M.; Faghihi, M.; Rafeieian-Kopaei, M.; Rasoulian, B.; Nazari, A., 2019**. Cardioprotective effect of ethanolic leaf extract of *Melissa officinalis* L. against regional ischemia-induced arrhythmia and heart injury after five days of reperfusion in rats. *Iran. J. Pharm. Res. IJPR*, 18, 1530–1542
 - **Servais, S., 2004**.Altération mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l’ozone : Effet de l’âge et d’une supplémentation en oméga-3 .Thèse de doctorat de l’université de Claude Bernard.
 - **Seyoum, A., Asres, K., et El-Fiky, F., 2006**. Structure radicals scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67 (18), 2058-2070.
 - **Shahsavari, K., Ardekani, M.R. S., Khanavi, M., Jamialahmadi, T., Iranshahi, M., Hasanpour, M., 2024**. Effects of *Melissa officinalis* (lemon balm) consumption on serum lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Complementary Medicine and Therapies*.24:146
 - **Shakeri, A.; Sahebkar, A.; Javadi, B., 2016**. *Melissa officinalis* L.—A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol*, 188, 204–228.
 - **Silva, L. N., Zimmer, K. R., Macedo, A. J., & Trentin, D. S., 2016**. Plant natural products targeting bacterial virulence factors." *Chemical Reviews*, 116(16), 9162-9236. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00184
 - **Speck B, Ursula et Fotsch C. 2009**. Connaissance des herbes. EGK-caisse de Santé.pp4.
 - **Sun, B.S, Ricardo-Da-Silva, J.M., Spranger, M.I., 1998**. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J Agric Food Chem*, Vol 46; pp 4267-4274
 - **Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D.L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans J., Carmeli Y., Ouellette M., Outtersson K, Patel J, Cavaleri M, Cox EM, Houchens, CR, Grayson, ML, Hansen, P, Singh, N, Theuretzbacher, U, Magrini, N., 2018**.WHO Pathogens Priority List Working Group. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 18(3):318-327. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3. Epub 2017 Dec 21. PMID: 29276051.
 - **Teuscher E., Anton R et Lobstein A, 2005** : Plantes aromatiques:épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Edition Tec &Doc.Paris.522p.
 - **Thoby, C., 2009**. La mélisse officinale, *Melissa officinalis* L. =, Thèse d'exercice : Pharmacie, Université de Nantes, n°18 - 136 p.
 - **Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G., 2015**. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management." *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603-661. DOI: 10.1128/CMR.00134-14
 - **Torres, R., Faini, F., Modak, B., Urbina, F., Labbé, C. Guerrero, J., 2007**.Antioxydant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius* », *Phytochemistry*, 67(10): 984-987.
 - **Truelle, A., 2009**. Le jardin familial de plantes médicinales (mélisse officinale).Gloubik sciences.pp4.

Références bibliographiques

- **Ulanowska, K., et al., 2007.** The effect of quercetin on the antibacterial activity of selected antibiotics against *Staphylococcus aureus*." *Biochemical Pharmacology*, 74(4), 521-532. DOI: 10.1016/j.bcp.2007.04.001
- **Ulubelen, A., Topcu, G., Kolak, U., 2005.** Labiatae Flavonoids and their Bioactivity, *Studies in Natural Products Chemistry*, 30:233-302.
- **Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser J., 2007.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease=, *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84.
- **Valsaraj, R., et al., 1997.** "Screening of selected Indian medicinal plants for antimicrobial activity." *Journal of Ethnopharmacology*, 58(2), 75-83. DOI: 10.1016/S0378-8741(97)00085
- **Ventola, C. L., 2015.**The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats." *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277-283. [PMCID: PMC4378521](#)
- **Vergely, C., Rochette, L., 2003.**Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Medicine thérapeutique Cardiologie*, Volume1, numéro 3, 131-139.
- **Verma, V. K., et Sharma, A. K., 2021.** Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Journal of ClinicalMedicine*, 10(12), 2683. doi:10.3390/jcm10122683
- **VIDAL, 2010.** eVidal [En ligne] - <http://www.evidal.net> (consulté le 2 septembre 2011)
- **Wächter, G. A., et al., 1999.** Antimicrobial compounds from *Eysenhardtia texana*." *Planta Medica*, 65(2), 191-192. DOI: 10.1055/s-1999-14077
- **Wichlt, M. et Anton, R., 2003.** Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique =, 2^{ème} édition, Lavoisier, 692p.
- **Wright, G. D., 2016.** Antibiotic Adjuvants: Rescuing Antibiotics from Resistance." *Trends in Microbiology*, 24(11), 862-871. DOI: 10.1016/j.tim.2016.06.003
- **Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I., 2020.** Chemical composition and antioxidant activity of *Melissa officinalis* essential oil. *Antioxidants*, 9(3), 197. DOI:10.3390/antiox9030197
- **Yi-Zhong, C., Mei, S., Jie, X, Qiong, L., Harold, C., 2006.** Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants, *Life Sciences*. 78(25),2872-2888.
- **Yusuf, Y., 2006.** Catechins in foods, *Trends Food Science Technology* .,17: 64-71.
- **Zarei, A.; Ashtiyani, S.C.; Taheri, S.; Rasekh, F., 2014.**Comparison between effects of different doses of *Melissa officinalis* and atorvastatin on the activity of liver enzymes in hypercholesterolemia rats. *Avicenna J. Phytomed.*, 4, 15–23.

Annexe I

Matériel et appareillage	Produits chimiques et réactifs
<ul style="list-style-type: none">▪ Broyeur électrique▪ Micropipettes▪ Balance électrique▪ Papier wattman▪ Spectrophotomètre▪ Bain de marie▪ Etuve▪ Incubateur▪ Agitateur▪ Vortex▪ Tubes à essais▪ Boite de pétri▪ Bec Bunsen	<ul style="list-style-type: none">▪ Ethanol▪ NAOH▪ $FECL_3$▪ HCL▪ NH_4OH▪ Anhydrique acétique▪ Acide sulfurique▪ Hcl▪ DPPH▪ DMSO▪ Muller-Hinton▪ Potato-Dextrose-Agar (PDA)

Annexe II

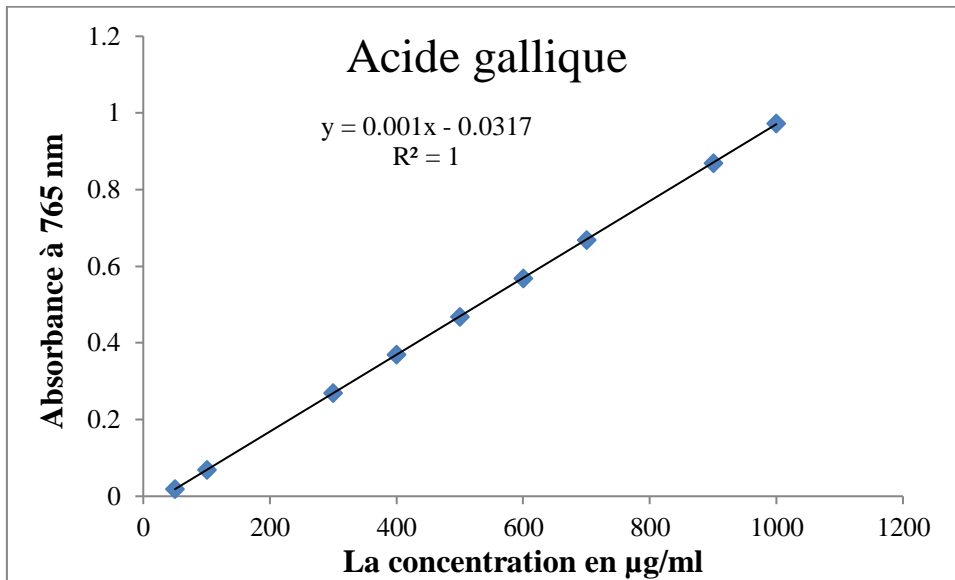


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

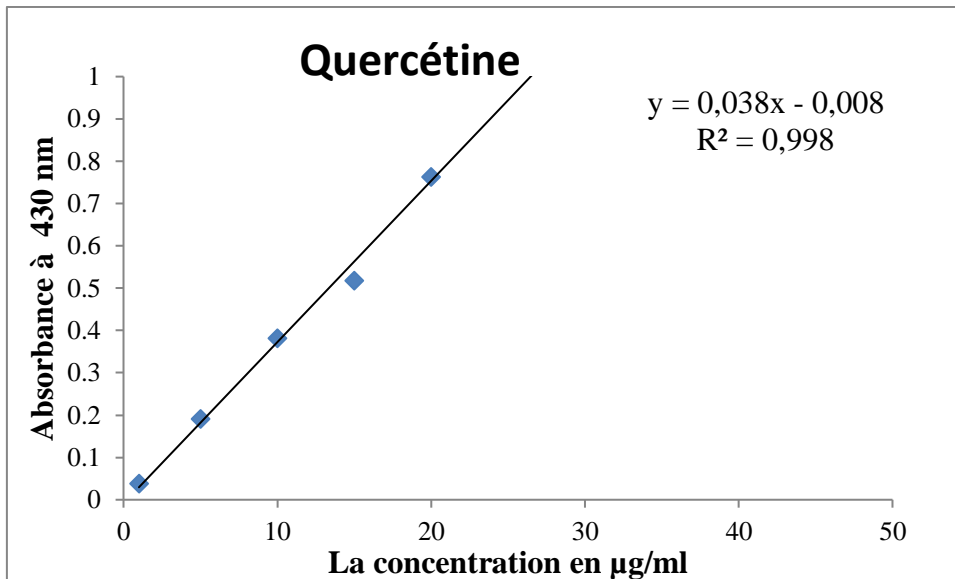


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

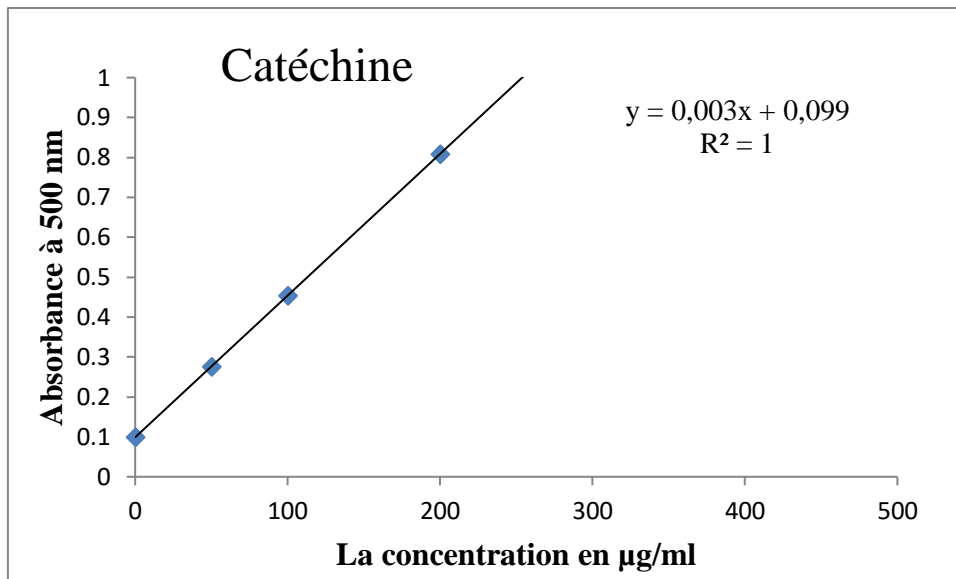


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la catéchine