جامعة سيدي محمد بن عبد الله بفاس
ⵜⴰⵙⴷⴰⵡⵉⵜ ⵙⵉⴷⵉ ⵎⵓⵃⵎⴷ ⴱⵏ ⵄⴱⴷⵍⵍⴰⵀ ⴱ ⴼⴰⵙ
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES

كلية العلوم والتقنيات فاس
ⵜⴰⵖⵡⴰⵍⵜ ⵏ ⵜⵣⵔⴼⵜ ⴷ ⵜⵙⵙⵏⵜⵉⵡⵉⵏ ⴰ ⵜⵙⵏⵜⵉⵡⵉⵏ
FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FÈS

N° d'ordre :

Centre des Etudes Doctorales : Sciences et Techniques et Sciences Médicales
Formation Doctorale : Sciences et Génie de la matière, de la Terre et de la Vie
Discipline : Biologie
Spécialité : Microbiologie et Biotechnologie
Laboratoire : Biotechnologie microbienne & molécules bioactives (LBM2B)

Thèse pour l'obtention de DOCTORAT

Evaluation des activités antimicrobiennes, anti-biofilms, antioxydantes et antidiabétiques des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* Ehrh., *Lavandula stoechas* L. et *Ammi visnaga* (L.) Lam.

Préparée par : Mr. Naoufal EL HACHLAFI

Soutenue le 29/12/2023 devant le jury :

Nom et Prénom	Grade	Etablissement	Qualité
Pr. Dalila BOUSTA	PES	Agence Nationale des Plantes médicinales et aromatiques	Présidente
Pr. Abdellatif BOUR	PES	Faculté des Sciences de Kénitra	Rapporteur & Examinateur
Pr. Amina BARI	PES	Faculté des Sciences de Fès	Rapporteur & Examinateur
Pr. Khadija BEKHTI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Rapporteur & Examinateur
Pr. Mohamed ADDI	PH	Faculté des Sciences d'Oujda	Examinateur
Pr. Abderrahim CHEBAT	PA	ISPITS - Rabat	Invité
Pr. Kawtar FIKRI BENBRAHIM	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Directrice de thèse

Remerciements

Je remercie Dieu pour ce que je suis et ce que j'ai.

J’ai eu la chance et le plaisir d’effectuer ce travail de recherche dans le laboratoire de Biotechnologie Microbienne & Molécules Bioactives (LBM2B), de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès (FST- Fès), sous la direction du Pr. **Kawtar FIKRI BENBRAHIM**.

Tout d’abord, je tiens particulièrement à remercier Madame la professeure **Kawtar FIKRI BENBRAHIM**, ma directrice de thèse, qui a bien voulu diriger ce travail avec beaucoup de compétence et d’efficacité. J’ai profité pendant longtemps du savoir et du savoir-faire dont j’ai pu bénéficier au cours de nombreuses discussions. J’ai été très sensible à sa grande disponibilité et à la totale confiance qu’elle m’a accordée. Sa grande expérience, ses précieux conseils et ses encouragements ont permis le bon déroulement et l’aboutissement de ce travail de thèse. J’ai trouvé en elle une directrice ouverte qui m’a guidé dans mon travail tout au long de ces années. Je la remercie de s’être souciée de mon devenir. J'espère que cette thèse sera un remerciement suffisant au soutien et à la confiance dont elle a fait preuve à mon égard.

Je tiens également à remercier Messieurs les Professeurs **Rachid BENCHEIKH** et **Saad IBNSOUDA KORAICHI** pour m’avoir accueilli au sein du laboratoire de Biotechnologie Microbienne & Molécules Bioactives (LBM2B) de la FST-Fès, pour m’avoir fait confiance, m’avoir encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Qu’ils soient assurés de ma profonde gratitude.

Je suis très honoré par la présence de Madame **Dalila BOUSTA**, Professeure à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès et directrice de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques, Taounate. Je lui exprime ma sincère gratitude d’avoir accepté de présider le jury de ma thèse.

Je remercie Madame **Khadija BEKHTI**, Professeure à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, pour l’honneur que vous me faites en acceptant d’être rapporteur de cette thèse. Votre jugement sera d’une grande valeur dans l’appréciation de ce travail. Veuillez croire, professeure, à l’assurance de mon respect et ma grande reconnaissance.

J’exprime ma reconnaissance également à Madame **Amina BARI**, Professeure à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès, qui me fait l’honneur d’examiner ce travail en qualité de rapporteur. Veuillez trouver ici l’expression de mes vifs remerciements et de ma très sincère considération.

Je remercie vivement Mr. **Abdellatif BOUR**, professeur à la Faculté des Sciences de Kénitra pour l’honneur qu’il m’a accordé en acceptant de rapporter ce travail. Veuillez trouver ici l’expression de mon profond respect.

Je remercie profondément Mr. **Mohammed ADDI**, Professeur à la Faculté des Sciences d'Oujda, pour la bienveillante attention qu'il a accordé à ce travail. Je le remercie profondément d'avoir bien voulu accepter de siéger dans ce jury.

Monsieur le Professeur **Abderrahim CHEBAT** : Merci infiniment pour l'aimable contribution que vous m'avez apportée afin de mener à bien ce projet de recherche.

Je remercie très sincèrement Mr. **Abdellah FARAH**, Professeur à la FST-Fès pour la bienveillante attention qu'il a accordé à ce travail, ainsi que pour sa grande contribution et ses encouragements permanents.

Je remercie également Mr. **Abdelhakim BOUYAHYA**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat. Merci pour l'intérêt que vous avez manifesté à l'égard de ce travail, pour vos conseils pertinents, votre soutien et vos encouragements permanents. Je vous adresse ma profonde reconnaissance pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

Je remercie vivement, Madame la Professeure **Hanae NACEIRI MRABTI**, de l'Institut Supérieur des Professions infirmières et Techniques de Santé (ISPITS), Casablanca, pour son amitié, son aide, sa confiance et ses conseils précieux tout le long de mon travail de thèse.

Je profite d'occasion pour adresser un immense merci à toute l'équipe pédagogique du Master de Biotechnologie Microbienne et à tous les membres du LBM2B, plus particulièrement **Pr. Abdellatif HAGGOUD**, **Pr. Mohammed IRAQUI HOUSSAINI**, **Pr. Naima EL GHACHTOULI**, **Pr. Samir ANANOU, Pr. Khadija BEKHTI, Pr. Laila MANNI** et **Pr. Lotfi AARAB**, qui par leur gentillesse et leur disponibilité, ont rendu le quotidien de ces années de thèse agréable et chaleureux.

Je n'oublierai jamais l'aide précieuse du **Pr. Mouhcine FADIL, Pr. Mohamed BNOUHAM**, **Pr. Chakib ALEM, Pr. Mohammed DALLI, Pr. Jaouad BENSALAH** et **Pr. Omar EL HAMDAOUI**.

Un très grand Merci à l'ensemble de mes collègues et amis de travail qui, par leur amitié, m'ont épaulé tout au long des années, pour l'amitié qu'ils m'ont témoigné et tous les beaux moments passés ensemble, plus particulièrement à mes amis Mme **Nesrine BENKHAIRA** et Mr. **Mohamed JEDDI** sans oublier ***Mohamed FERIOUN, Amine ELBOUZIDI, Nouhaila ZOUINE, Marouane SALHI, Ilham ZOUITANE, Samira JAOUHAR, Mohamed EL FADILI, Rhizlan ABDNIM, Soukaina LAARAJ, Safae ER RAOUAN, Rachid FLOUCHI, Fahd KANDSI, Ibrahim TOUZANI, Badr ERRABITI, Amine BATBAT, Amal RAMZI, Amine EZ-ZOUBI et Wafae MOUSTAID***.

Ce travail n'aurait pu aboutir sans la précieuse collaboration de toutes ces personnes.

*U*n grand merci à toutes les personnes qui m'ont aidé d'une manière ou d'une autre dans ce parcours.

Dédicaces

En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu, tout puissant, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés

Ainsi, c'est tout simplement que Je dédie cette Thèse…

A mes très chers parents Morad El Ouzzania et El Hachlafi driss

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Puisse Dieu le tout puissant vous bénir et vous donner santé et bonheur

À Mes frères ***Oussama, Salma, Hatime et Abdelilah El Hachlafi***

Aucun mot ne pourrait exprimer mon respect et ma gratitude sincère et fidèle. Je vous dédie ce travail, en implorant Dieu le tout puissant de vous accorder une longue vie de bonheur, de prospérité et de réussite, en vous souhaitant le brillant avenir que vous méritez.

A mes amis ***Nesrine Benkhaira, Mohamed Jeddi, Samir Jeddi, Mohamed Ferioun, Samir Chberreq, Ilyass Houmane, Hafid Jeddi, Ibrahim Touzani, Jihane Benkhaira et Mohamed Tazi***

Pour leurs qualités humaines, leur soutien, et leur générosité.

Avec vous j'ai partagé de très beaux moments, merci.

Résumé de la thèse

Cette étude vise à approfondir les connaissances sur les huiles essentielles (HEs) de trois plantes aromatiques et médicinales, à savoir *Mentha suaveolens*, *Lavandula stoechas* et *Ammi visnaga* par la caractérisation de leurs compositions chimiques et l'étude de leurs pouvoir antimicrobiens, anti-biofilms, antioxydants et antidiabétiques. Ainsi que de mettre en évidence l'effet antibactérien combiné de ces HEs, en développant des formulations optimales contre la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* à la surface de l'acier inoxydable (304L SS) par le biais d'une méthodologie de conception de mélanges.

Dans un premier temps, nous avons procédé à la caractérisation de la composition chimique des trois HEs obtenues par hydrodistillation à travers la chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie en masse (CPG-MS). Au total, 47 composés ont été identifiés dans les trois huiles étudiées. Trente, treize et dix constituants ont été identifiés dans les HEs d'*A. visnaga, M. suaveolens* et *L. stoechas*, respectivement, représentant 98,69 %, 96,17 % et 98,88 % de ces huiles. Les principaux composants étaient la fenchone (29,77 %) et le camphre (24,9 %) pour l'HE de *L. stoechas*, et le linalol (38,29 %) pour l'HE d'*A. visnaga*, tandis que l'HE de *M. suaveolens* était principalement représenté par l'oxyde de pipéritenone (74,55 %). Ensuite, nous avons évalué l'effet antibactérien des HEs étudiées par les méthodes de diffusion sur disque, et de micro-dilution et les résultats ont montré que les trois HEs étudiées possèdent des effets bactéricides vis-à-vis des bactéries à Gram positifs et les bactéries à Gram négatifs. Cependant une sensibilité Gram-dépendant a été également observée. Ensuite, les HEs étudiées ont révélé un potentiel antimicrobien important contre les espèces de *Candida* et les mycobactéries. Les valeurs de la CMI, de la CMB et de la CMF étaient comprises entre 0,031 et 16% (v/v). Les rapports CMB/CMI et CMF/CMI étaient généralement inférieurs ou égaux à 4,0 % (v/v), ce qui indique une efficacité bactéricide et candidicide notable.

Dans un second temps, nous avons procédé à l'évaluation de l'effet antibactérien combiné de trois HEs à l'aide de plan d'expériences. L'optimisation de l'effet antibactérien des mélanges a démontré l'effet synergique entre les trois HEs. Le mélange optimal prédit contre *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* correspondait à 30%/42%/28%, 50%/50%/0%, 43%/30%/27%, des HEs d'*A. visnaga*, *L. stoechas* et *M. suaveolens*, respectivement. L'évaluation de l'angle de contact a indiqué que les trois HEs et leurs mélanges optimaux inhibent remarquablement l'adhésion bactérienne de *P. aeruginosa* et *S. aureus* par l'altération des propriétés physico-chimiques de la surface de l'acier inoxydable 304L. Ces résultats sont confirmés par l'analyse à la microscopie électronique à balayage (MEB), prouvant que la formulation des HEs est capable d'inhiber plus de 80 % de l'adhésion bactérienne à la surface de l'acier inoxydable 304L.

Dans la deuxième partie de cette étude, la capacité antioxydante des HEs a été examinée à l'aide de quatre tests complémentaires, à savoir les tests DPPH, ABTS, pouvoir réducteur, et β-carotène. Les résultats ont montré que les HEs étudiées possèdent des effets antioxydants avec des degrés différents du pouvoir anti-radicalaire (ABTS et DPPH), réducteur et protecteur de peroxydation de lipides.

Enfin, notre étude a été achevée par l'évaluation de l'activité antidiabétique des trois HEs sélectionnées à travers leurs actions inhibitrices des activités enzymatiques de l'α-amylase et de l'α-glucosidase. Les résultats ont révélé que toutes les HEs peuvent restreindre les activités des enzymes, l'α-amylase (0,300 ± 0,008 mg/mL<CI_{50}<0,351 ± 0,04 mg /mL) et de l'α-glucosidase (0,258 ± 0,04 mg/mL<CI_{50}< 0,302 ± 0,01 mg /mL) à des faibles doses comparées à l'agent standard utilisé (acarbose).

Ces résultats ont démontré que les plantes testées ont des activités biologiques prometteuses, ce qui confirme leur usage ethnobotanique et offre des applications potentielles en tant que médicaments.

Mots clés : *Mentha suaveolens* ; *Lavandula stoechas* ; *Ammi visnaga*; formulations antibactériennes; biofilm ; Modélisation mathématique ; Plan d'expériences.

Abstract

This study aims, first, to extend current knowledge about the essential oils (EOs) of three aromatic and medicinal plants, namely *Mentha suaveolens*, *Lavandula stoechas* and *Ammi visnaga*, through characterisation of their chemical compositions and investigation of their antimicrobial, anti-biofilm, antioxidant and anti-diabetic properties, and, secondly, to demonstrate the combined antibacterial effect of these EOs, by developing optimal formulations against the formation of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms on the surface of stainless steel (304L SS) using a mixture design methodology.

First, we have characterised the chemical composition of the three EOs obtained by hydrodistillation using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). A total of 47 compounds were identified in the three oils. Thirty, thirteen and ten constituents were identified in the EOs of *A. visnaga*, *M. suaveolens* and *L. stoechas*, respectively, representing 98.69%, 96.17% and 98.88% of these oils. The main components were fenchone (29.77%) and camphor (24.9%) for *L. stoechas* EO, and linalool (38.29%) for *A. visnaga* EO, while *M. suaveolens* EO was mainly represented by piperitenone oxide (74.55%). Then, we have evaluated the antibacterial effect of the studied EOs by disc diffusion and micro-dilution methods and the results showed that the studied EOs had bactericidal effects on Gram-positive and Gram-negative bacteria. Gram-dependent sensitivity was also observed. The MIC, MBC and CMF values were ranged from 0.031 to 16% (v/v). Moreover, the MBC/MIC and MFC/MIC ratios were generally less than or equal to 4.0% (v/v), indicating significant bactericidal and candidicidal efficacy.

Secondly, we have assessed the combined antibacterial effect of three EOs using experimental design. The optimisation of the antibacterial effect of the mixtures demonstrated the synergistic effect between the three EOs. The optimal mixture predicted against *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus* corresponded to 30%/42%/28%, 50%/50%/0%, 43%/30%/27%, of *A. visnaga*, *L. stoechas* and *M. suaveolens* EOs, respectively. Evaluation of the contact angle indicated that the three EOs and their optimal mixtures remarkably inhibited bacterial adhesion of *P. aeruginosa* and *S. aureus* by altering the physico-chemical properties of the 304L stainless steel surface. These results are confirmed by scanning electron microscopy (SEM) analysis, proving that the EOs formulation is capable to inhibit more than 80% of bacterial adhesion to the surface of 304L stainless steel.

In the second part of this study, the antioxidant capacity of the EOs was examined using four complementary tests, namely the DPPH, ABTS, reducing power and β-carotene tests. The results showed that the studied EOs possess antioxidant effects with different degrees of free radical scavenging (ABTS and DPPH), reducing and lipid peroxidation protective capacity.

Finally, our study was completed by evaluating the anti-diabetic activity of the three selected EOs through their inhibitory actions on the enzymatic activities of α-amylase and α-glucosidase. The results revealed that all the EOs can restrict the activities of both α-amylase (0.300 ± 0.008 mg/mL $< IC_{50} <$ 0.351 ± 0.04 mg/mL) and α-glucosidase enzymes (0.258 ± 0.04 mg/mL $< IC_{50} <$ 0.302 ± 0.01 mg /mL) at low doses compared with the standard agent used (acarbose).

These results demonstrated that the studied plants possess valuable biological properties, validating their ethnomedicinal value and providing potential applications as natural drugs.

Keywords: *Mentha suaveolens*; *Lavandula stoechas*; *Ammi visnaga*; antibacterial formulations; biofilm; mathematical modeling; experimental design.

ملخص

تهدف هذه الدراسة، في المقام الأول، إلى توسيع المعرفة الحالية حول الزيوت الأساسية لثلاث نباتات عطرية وطبية، وهي على وجه التحديد *Ammi visnaga*، و*Lavandula stoechas*، و*Mentha suaveolens* ، من خلال توصيف تركيباتها الكيميائية والتحقيق في خصائصها المضادة للميكروبات ومضادة للبايوفيلم ومضادة للأكسدة ومضادة لمرض السكري، وفي المقام الثاني، إلى إظهار التأثير المضاد للبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*و *Staphylococcus aureus* المشترك لهذه الزيوت الأساسية، من خلال تطوير تركيبات مثلى ضد تكوين بايوفيلمات على سطح الفولاذ المقاوم للصدأ باستخدام منهجية تصميم خليط.

أولاً، قمنا بتوصيف التركيب الكيميائي لثلاث زيوت أساسية تم الحصول عليها بواسطة التقطير بالبخار باستخدام كروماتوغرافيا الغاز بالكتلة- الكتلة. تم التعرف على مجموع 47 مركبًا في الزيوت الثلاث. تم التعرف على ثلاثين مكونًا في زيت *A. visnaga* ، وثلاثة عشر في زيت *L. stoechas* ، وعشرة في زيت *M. suaveolens* ، يمثلون 98،69%، 96،17%، و 98،88% على التوالي من هذه الزيوت. كانت المكونات الرئيسية هي الفينكون (29،77%) والكامفور (38،9%) لـ *L. stoechas* ، بينما كان *A. visnaga* ، واللينالول (38،29%) لـ *M. suaveolens* يُمثل زيت بشكل رئيسي بواسطة أكسيد البايبريتينون (74،55%). ثم قمنا بتقييم التأثير المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية المدروسة باستخدام أساليب الانتشار على الأقراص وطرق الميكرو-تخفيف، وأظهرت النتائج أن لديها تأثيرًا بكتيريسيدال على البكتيريا الغرامية الإيجابية والسالبة. كما لوحظت الحساسية تجاه الغرام في تلك النتائج. تراوحت قيم التركيز الحد الأدنى المثبط والتركيز الحد الأدنى المبيد للبكتيريا والتركيز الحد الأدنى المبيد للفطريات من 0،031 إلى 16% (حجم/حجم)، مشيرة إلى فعالية قاتلة للبكتيريا وكانديديسيدال ملحوظة.

في المرحلة الثانية، قمنا بتقييم التأثير المضاد للبكتيريا المشترك لثلاث زيوت أساسية باستخدام تصميم تجريبي. أظهرت تحسين تأثير المزائج *S. aureus* و *P. aeruginosa* و *E. coli* تحسينًا ملحوظًا في التأثير المضاد للبكتيريا بين الزيوت الأساسية الثلاث. كان المزيج المثلى المتوقع ضد *M. suaveolens* و *L. stoechas* و *A. visnaga* يتناسب مع نسب 30%/42%/28%، 50%/50%/0%، 43%/30%/27% لزيوت على التوالي. أظهر تقييم زاوية الاتصال أن الزيوت الأساسية الثلاث ومزائجها المثلى قاومت بشكل ملحوظ لاصقية البكتيريا *aureus* تم تأكيد هذه النتائج من خلال .عن طريق تغيير الخصائص الفيزيكوكيميائية لسطح الفولاذ المقاوم للصدأ *S. aureus* و *P. aeruginosa* تحليل المجهر الإلكتروني الماسح، مؤكدة أن صياغة الزيوت الأساسية قادرة على منع أكثر من 80% من لاصقية البكتيريا على سطح الفولاذ المقاوم للصدأ.

في الجزء الثاني من هذه الدراسة، تم فحص قدرة الزيوت الأساسية على مكافحة الأكسدة باستخدام أربعة اختبارات تكميلية، هي اختبار DPPH ، واختبار ABTS ، وقوة الاختزال الحديدية، واختبار تأكسد الدهون. أظهرت النتائج أن الزيوت الأساسية المدروسة تمتلك تأثيرات مضادة للأكسدة بدرجات مختلفة من مكافحة الجذور الحرة (DPPH و ABTS)، وقوة الاختزال الحديدية، وقدرة حماية الدهون من التأكسد.

وأخيرًا، تم استكمال دراستنا بتقييم النشاط المضاد لمرض السكري للزيوت الأساسية الثلاث المختارة من خلال دراسة تأثيرها المثبط على ألفا-أميليز (الأنشطة الإنزيمية لألفا-أميليز وألفا-جلوكوسيداز). أظهرت النتائج أن جميع الزيوت الأساسية قادرة على تقييد أنشطة كل من ألفا-أميليز بتراوح) IC50 بتراوح) وألفا-جلوكوسيداز (من 0،300 ± 0،008 ملغ/مل إلى 0،351 ± 0،04 ملغ/مل IC50 من 0،258 ± 0،04 ملغ/مل إلى عند جرعات منخفضة مقارنة بالمركب القياسي المستخدم (الأكاربوز). أظهرت هذه النتائج أن النباتات المدروسة (0،302 ± 0،01 ملغ/مل تمتلك خصائص بيولوجية قيمة، مما يؤكد على قيمتها الطبية التقليدية ويفتح أفقًا لتطبيقات محتملة كأدوية طبيعية.

الكلمات الدالة : تركيبات مضادة للجراثيم، الأغشية الحيوية، النمذجة الرياضية، التصميم التجريبي.

Sommaire

Liste des Publications I

Liste des Abréviations II

Liste des Figures III

Liste des Tableaux IV

Introduction générale 1

Partie I : Revue bibliographique 6

I. Généralités sur les huiles essentielles 7
1. Chimie des HEs 7
1.1 Biosynthèse des terpènes 8
1.2 Biosynthèse des phénylpropanoïdes 9
2. Extraction des HEs 10
3. Facteurs influençant la composition chimique des HEs 10
4. Pouvoir antimicrobien des HEs 11
4.1 Résistance aux antimicrobiens 11
4.2 Causes majeures de la résistance aux antimicrobiens 12
4.3 Mécanismes de résistance bactérienne 13
4.4 Biofilms 14
4.4.1 Étapes de la formation des biofilms 14
a. Attachement 15
b. Croissance et maturation 16
c. Détachement et dispersion 16
4.5 Mécanisme de l'activité antibactérienne des huiles essentielles 17
5. Pouvoir antioxydant des HEs 20
5.1 Stress oxydatif 20
5.2 Mécanisme des antioxydants dans le corps humain 21
5.3 Mécanismes de la défense antioxydante 21
5.4 Activité antioxydante des HEs 23
6. Pouvoir antidiabétique des HEs 25
6.1 Généralités 25
6.2 Classification du diabète 25
6.2.1 Diabète de type I 25
6.2.2 Diabète de type II 26
6.3 Physiopathologie du DT2 26
6.4 Traitements actuels 27
6.5 Activité antidiabétique des HEs 28

II. Présentation des espèces étudiées 29

II.1 Description de la famille des Lamiacées 29

1. Genre *Lavandula* 30
1.1 *Lavandula stoechas* L. 30
1.1.1 Taxonomie et description botanique 30
1.1.2 Répartition géographique 31
1.1.3 Usage traditionnel 32
2. Genre *Mentha* 32
2.1 *Mentha suaveolens* Ehrh. 33
2.1.1 Taxonomie et description botanique 33
2.1.2 Usage traditionnel 34

II.2 Description de la famille des Apiacées 34
1. *Ammi visnaga* (L.) Lam. 35
1.1 Taxonomie et description botanique 35
1.2 Répartition biogéographique 36
1.3 Utilisation traditionnelle 36

II.3 Etat des lieux / de connaissance pour les plantes étudiées 37

Partie II : Matériel et Méthodes 42

I. Matériel végétal 43
1. Récolte des plantes étudiées 43
2. Extraction des huiles essentielles 44

II. Analyse de la composition chimique : Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM) 44
1. Conditions opératoires 44
2. Identification des constituants 44

III. Étude de l'activité antimicrobienne 45
1. Microorganismes, culture et conditions de conservation 45
2. Préparation du standard 0,5 McFarland 46
3. Préparation d'inoculum 46
3.1 Bactéries 46
3.2 Espèces de *Candida* 47
4. Diffusion sur disque 47
5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) 48
6. Concentration minimale bactéricide (CMB)/ Fongicide (CMF) 49
7. Détermination du rapport CMB (CMF)/CMI 50

IV. Plan d'expérience 50
1. Identification des facteurs et des réponses 50
2. Conception du mélange et modèle mathématique 51
3. Souches testées 52
4. Préparation des mélanges 53
5. Analyse statistique 53

6. Outils d'optimisation 53
V. Effet anti-adhésion 54
1. Préparation du matériau 54
2. Souches bactérienne cibles 54
3. Traitement de l'acier inoxydable 304L par les HEs 54
4. Évaluation de l'angle de contact 54
5. Mesures de l'énergie libre de surface et de l'hydrophobicité 55
6. Évaluation de l'adhésion 56
7. Expérience d'anti-adhésion 56
8. Microscopie électronique à balayage (MEB) 56
VI. Activité antioxydante 57
1. Piégeage du radical libre DPPH 57
1.1 Mode opératoire 57
1.2 Détermination de CI_{50} (µg / mL) 57
2. Piégeage du radical libre ABTS 58
3. Pouvoir réducteur 58
4. Test de blanchissement du β-carotène 58
VII. Activité antidiabétique 59
1. Inhibition in vitro de l'α-amylase pancréatique 59
2. Inhibition in vitro de l'α-glucosidase intestinale 60
Partie III : Résultats et Discussion 61
I. Description, rendement et compositions chimiques des HEs 62
1. Caractéristiques et rendements des HEs étudiées 62
2. Identification chimique des HEs par CPG-MS 63
II. Activité antimicrobienne 69
1. Diffusion sur disque d'agar - Criblage antimicrobien 69
2. Concentration minimale inhibitrice (CMI) 73
3. Concentration minimale bactéricide (CMB) / fongicide (CMF) 78
III. Optimisation de l'effet antibactérien par la conception de mélanges 81
1. Conception de formulations antibactériennes 81
2. Validation statistique du modèle postulé 81
2.1 *Escherichia coli* 82
2.2 *Staphylococcus aureus* 83
2.3 *Pseudomonas aeruginosa* 84
3. Effets des facteurs 85
3.1 *Escherichia coli* 85
3.2 *Staphylococcus aureus* 86
3.3 *Pseudomonas aeruginosa* 87
4. Optimisation de la formulation et étude de désirabilité 87
4.1 Profil du mélange 88

4.1.1 Pouvoir de la formulation des HEs contre *S. aureus* 88
4.1.2 Pouvoir de la formulation des HEs contre *P. aeruginosa* 90
4.1.3 Pouvoir de la formulation des HEs contre *E. coli* 92
4.2 Effet synergique entre les HEs 94

IV. Activité antibiofilm / antiadhésive 97
1. Effet des HEs et leurs mélanges optimaux sur les propriétés physicochimiques du matériau étudié 97
2. Evaluation de l'adhésion bactérienne à la surface de l'acier inoxydable 304L 100

V. Activité antioxydante 107
1. Piégeage du radical libre DPPH 108
2. Piégeage du radical libre ABTS 109
3. Pouvoir réducteur 110
4. Test de blanchissement du β-carotène 111
5. Discussion 112

VI. Activité antidiabétique *In vitro* 115

Conclusion et Perspectives 121

Références bibliographiques 125

Liste des Publications

- **Naoufal El Hachlafi**, Nesrine Benkhaira, Nouhaila Zouine, Mouhcine Fadil, Mohamed Jeddi, Samir Jeddi, Rachid Flouchi, Saad Ibnsouda Koraichi, Kawtar Fikri-Benbrahim. Exploration of Novel Antibacterial and Anti-adhesive Formulations from three Chemically Characterized Essential oils: Optimization using experimental design methodology, ***Scientific African***, Vol 22, **2023**, e01927.
- **Naoufal El Hachlafi**, Kawtar Fikri-Benbrahim, Al-Mijalli, S. H., Elbouzidi, A., Jeddi, M., Abdallah, E. M., ... & Chahdi, F. O. *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. essential oil as a promising source of bioactive compounds with antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory and dermatoprotective properties: In vitro and in silico evidence. ***Heliyon***, **2023**.
- **Naoufal El Hachlafi**, Hanae Naceiri Mrabti, Samiah Hamad Al-Mijalli, Mohamed Jeddi, Emad M. Abdallah, Nesrine Benkhaira, Hanine Hadni, Hamza Assaggaf, Ahmed Qasem, Khang Wen Goh, Ammar AL-Farga, Abdelhakim Bouyahya, Kawtar Fikri-Benbrahim. Antioxidant, volatile compounds; antimicrobial, anti-inflammatory, and dermatoprotective properties of *Cedrus atlantica* (endl.) manetti ex carriere essential oil: in vitro and in silico investigations. ***Molecules***, **2023**, vol. 28, no 15, p. 5913.
- **Naoufal El Hachlafi**, Nesrine Benkhaira, Samiah Hamad Al-Mijalli, Hanae Naceiri Mrabti, Rhizlan Abdnim, Emad M. Abdallah, Mohamed Jeddi, Mohamed Bnouham, Learn-Han Lee, Chrismawan Ardianto, Long Chiau Ming, Abdelhakim Bouyahya, Kawtar Fikri-Benbrahim. Phytochemical analysis and evaluation of antimicrobial, antioxidant, and antidiabetic activities of essential oils from Moroccan medicinal plants: *Mentha suaveolens*, *Lavandula stoechas*, and *Ammi visnaga*, ***Biomedicine & Pharmacotherapy***, Vol 164, **2023**.
- **Naoufal El Hachlafi**, Nesrine Benkhaira, Mohamed Ferioun, Fahd Kandsi, Mohamed Jeddi, Abderrahim Chebat, Mohamed Addi, Christophe Hano, Kawtar Fikri-Benbrahim. Moroccan Medicinal Plants Used to Treat Cancer: Ethnomedicinal Study and Insights into Pharmacological Evidence. ***Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine***, **2022**, vol. 2022.
- **Naoufal El Hachlafi**, Abderrahim Chebat, Kawtar Fikri-Benbrahim, Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Pharmacological Properties of *Thymus satureioides* Coss. ***Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine***, **2021**, 6673838.

- **Naoufal El Hachlafi**, Fatima Lakhdar, Aya Khouchlaa, Saad Bakrim, Nasreddine El Omari, Abdelaali Balahbib, Mohammad A. Shariati, Gokhan Zengin, Kawtar Fikri-Benbrahim, Giustino Orlando, Claudio Ferrante, Luigi Meninghi, and Abdelhakim Bouyahya. Health Benefits and Pharmacological Properties of Hinokitiol ***Processes***, Vol 9 no. 9, **2021**: 1680.
- **Naoufal El Hachlafi**, Tariq Aanniz, Naoual El Menyiy, Aicha El Baaboua, Nasreddine El Omari, Abdelaali Balahbib, Mohammad Ali Shariati, Gokhan Zengin, Kawtar Fikri-Benbrahim, Abdelhakim Bouyahya. In vitro and in vivo biological investigations of camphene and its mechanism insights: a review. ***Food Reviews International***, 2021, 1-28.
- **Naoufal El Hachlafi**, Abderrahim Chebat, Rachida Soulaymani Bencheikh, Kawtar Fikri-Benbrahim. Ethnopharmacological study of medicinal plants used for chronic diseases treatment in Rabat-Sale-Kenitra region (Morocco). ***Ethnobotany Research and Applications***, 20, **2020**, 1-23.
- Mohamed Jeddi, **Naoufal El Hachlafi**, Mohamed El Fadili, Nesrine Benkhaira, Samiah Hamad Al-Mijalli, Fahd Kandsi, Emad M. Abdallah, Zineb Benziane Ouaritini, Abdelhakim Bouyahya, Learn-Han Lee, Gokhan Zengin, Hanae Naceiri Mrabti, Kawtar Fikri-Benbrahim. Antimicrobial, antioxidant, α-amylase and α-glucosidase inhibitory activities of a chemically characterized essential oil from *Lavandula angustifolia* Mill.,: in vitro and in silico investigations, ***Biochemical Systematics and Ecology***, Vol 111, **2023**, 104731.
- Mohamed Jeddi, **Naoufal El Hachlafi**, Mouhcine Fadil, Nesrine Benkhaira, Samir Jeddi, Zineb Benziane Ouaritini, Kawtar Fikri-Benbrahim. Combination of Chemically-Characterized Essential Oils from *Eucalyptus polybractea*, *Ormenis mixta*, and *Lavandula burnatii*: Optimization of a New Complete Antibacterial Formulation Using Simplex-Centroid Mixture Design. ***Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences***, **2023**, vol. 2023.
- Nesrine Benkhaira, **Naoufal El Hachlafi**, Mohamed El fadili, Mohamed Jeddi, Rhizlan Abdnim, Mohamed Bnouham, Saad Ibnsouda Koraichi, Kawtar Fikri-Benbrahim, Unveiling the phytochemical profile, in vitro bioactivities evaluation, in silico molecular docking and ADMET study of essential oil from Clinopodium nepeta grown in Middle Atlas of Morocco, ***Biocatalysis and Agricultural Biotechnology***, **2023**, 102923.

Liste des Abréviations

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique

BHA : Hydroxyanisole butylé

BHT : Butylhydroxytoluène

CAT : catalase

CE_{50} : Concentration efficace médiane

CI_{50} : Concentration inhibitrice médiane

CLSI : Clinical & Laboratory Standards Institute

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMF : Concentration minimale Fongicide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse

DNS : Acide 3,5-dinitrosalicylique

DPPH : 2,2′-Diphényl-1-picrylhydrazyl

DT1 : Diabète de type I

DT2 : Diabète de type II

EPS : Substances polymériques extracellulaires

GPx : glutathion peroxydase

GR : glutathion réductase

GSH : Glutathion

HEs : Huiles essentielles

IK : Indice de Kovats

LPS : Lipopolysaccharide

MDR : multirésistantes

MEB : Microscope électronique à balayage

MEP : 2C-méthyl-D-érythritol-4-phosphate

MH : Gélose de Muller Hinton

MSR : méthionine sulfoxyde réductase

MVA : Acide mévalonique

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

OMS : Organisation mondiale de la santé

PPARγ : Récepteur gamma activé par les prolifératéurs de peroxysomes

QS : quorum sensing

RAM : Résistance aux antimicrobiens

RNS : espèces réactives de l'azote

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

SO : stress oxydatif

SOD : superoxyde dismutase

TCA : Acide trichloroacétique

YPG : Yeast peptone glucose

Liste des Figures

Figure 1. Etapes biosynthétiques de la voie de l'acide mévalonique pour la synthèse des terpènes. 8
Figure 2. Voie de biosynthèse de l'acide shikimique produisant des phénylpropanoïdes. 9
Figure 3. Différents mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques. 13
Figure 4. Étapes de la formation des biofilms. 15
Figure 5. Mode d'action antibactérien des HEs. 18
Figure 6. Schéma illustrant le stress oxydant. 20
Figure 7. Physiopathologie du diabète de type II. 27
Figure 8. Photographie originale de la partie aérienne de *Lavandula stoechas*. 31
Figure 9. Photographie originale de la partie aérienne de *Mentha suaveolens*. 33
Figure 10. Photographie originale de la partie aérienne d'*Ammi visnaga*. 36
Figure 11. Propriétés pharmacologique des HEs et des extraits de *L. stoechas*. 37
Figure 12. Principales propriétés biologiques des HEs et des extraits de *M. suaveolens*. 38
Figure 13. Activités pharmacologiques des HEs et des extraits d'*A. visnaga*. 38
Figure 14. Principaux constituants chimique d'*A. visnaga*. 39
Figure 15. Schéma descriptif de la méthode de diffusion sur disque d'agar. 48
Figure 16. Réduction du résazurine en résorufine par oxydoréductases des cellules viables. 49
Figure 17. Aperçu de la conception des points expérimentaux pour un mélange à trois composants. 51
Figure 18. Chromatogramme d'analyse par GC-MS de (a) des HEs de **(a)** *L. stoechas*, **(b)** *M. suoveloens* et **(c)** *A. visnaga* 64
Figure 19. Activité antimicrobienne des HEs étudiées contre **(a)** les bactéries et **(b)** les mycobactéries **(c)** les espèces de *Candida* obtenue par la méthode de diffusion sur disque. 71
Figure 20. Courbe des valeurs de CMI observées en fonction des valeurs de CMI prévues correspondant à la souche *E. coli*. Avec MIC : CMI. 82
Figure 21. Courbe des valeurs de CMI observées en fonction des valeurs de CMI prévues correspondant à la souche *S. aureus*. Avec MIC : CMI. 83
Figure 22. Courbe des valeurs de CMI observées en fonction des valeurs de CMI prévues correspondant à la souche *P. aeruginosa*. Avec MIC : CMI. 84
Figure 23. Diagrammes de mélange 2D et 3D présentant des variations de la CMI contre *S. aureus*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE *d'A. visnaga.* 89
Figure 24. Profil de désirabilité des proportions optimales relatives à l'activité antibactérienne du mélange vis-à-vis S. aureus. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*. 90
Figure 25. Diagrammes de mélange 2D et 3D présentant des variations de la CMI contre *P. aeruginosa*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*. 91
Figure 26. Profil de désirabilité des proportions optimales relatives à l'activité antibactérienne du mélange vis-à-vis *P. aeruginosa*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*. 92
Figure 27. Diagrammes de mélange 2D et 3D présentant des variations de la CMI contre *E. coli*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*. 93

Figure 28. Profil de désirabilité des proportions optimales relatives à l'activité antibactérienne du mélange vis-à-vis *E. coli*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*. 94
Figure 29. Profil de mélange obtenu testé sur *S. aureus, P. aeruginosa* et *E. coli* simultanément. Avec MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*. 95
Figure 30. Analyse MEB de l'adhésion de *S. aureus* à la surface de l'acier inoxydable 304L après 10 heures d'incubation. 100
Figure 31. Analyse MEB de l'adhésion de *P. aeruginosa* à la surface de l'acier inoxydable 304L après 10 heures d'incubation. 101
Figure 32. Pourcentage de la surface couverte de l'acier inoxydable par *P. aeruginosa* et *S. aureus* examiné par le logiciel MATLAB. 101
Figure 33. Analyse MEB (×1000) de l'adhésion de *S. aureus* sur la surface en acier inoxydable traitée avec (A) l'HE de *L. stoechas*, (B) l'HE d'*A. visnaga*, (C) l'HE de *M. suaveolens* et (D) MO1. 102
Figure 34. Pourcentage de la surface couverte de l'acier inoxydable par *S. aureus* non traité et traité par les trois HEs et leur MO1 examiné par le logiciel MATLAB. 103
Figure 35. Analyse MEB (×1000) de l'adhésion de *P. aeruginosa* sur la surface en acier inoxydable traitée avec (A) l'HE de *L. stoechas*, (B) l'HE d'*A. visnaga*, (C) l'HE de *M. suaveolens* et (D) MO2. 104
Figure 36. Pourcentage de la surface couverte de l'acier inoxydable par *P. aeruginosa* non traité et traité par les trois HEs et leur MO2 examiné par le logiciel MATLAB. 104
Figure 37. Activité de piégeage du radical DPPH des HEs étudiées à différentes concentrations. 108
Figure 38. Activité de piégeage du radical ABTS des HEs étudiées à différentes concentrations. 109
Figure 39. Pouvoir réducteur (CE_{50}) des HEs de *L. stoechas, M. suaveolens* et *A. visnaga*, comparée aux antioxydants standards (BHT et acide ascorbique). 111
Figure 40. CI_{50} des HEs de *L. stoechas, M. suaveolens* et *A. visnaga*, comparée aux antioxydants standards (BHT et acide ascorbique) déterminée par le test du β-carotène. 112
Figure 41. Effet inhibiteur des HEs de *M. suaveolens, A. visnaga, L. stoechas* et de l'acarbose contre l'enzyme α-amylase. Les valeurs sont exprimées par moyenne ± l'écart-type (n = 3). **p < 0,01, ***p < 0,001 en fonction du contrôle. 116
Figure 42. Effet inhibiteur des HEs de *M. suaveolens, A. visnaga, L. stoechas* et de l'acarbose contre l'enzyme α-glucosidase. Les valeurs sont exprimées par moyenne ± l'écart-type (n = 3). **p < 0,01, ***p < 0,001 en fonction du contrôle. 117

Liste des Tableaux

Tableau 1. Activités biologiques et l'activité antioxydante des HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens* et *A. visnaga*. 40

Tableau 2. Plantes médicinales étudiées. 43

Tableau 3. Caractéristiques des souches microbiennes étudiées. 45

Tableau 4. Milieux de culture et conditions d'incubation en fonction des germes. 46

Tableau 5. Détermination des effets bactéricide et bactériostatique des HEs. 50

Tableau 6. Identification des facteurs et des réponses étudiées. 50

Tableau 7. Différentes combinaisons sélectionnées par le plan de mélange. 52

Tableau 8. Caractéristiques énergétiques (mJ/m^2) des liquides purs utilisés pour mesurer les angles de contact. 55

Tableau 9. Aspect, couleur et odeur des HEs des plantes médicinales étudiées. 62

Tableau 10. Composition chimique (en %) des HEs étudiées. 65

Tableau 11. CMI des HEs étudiées par rapport aux agents antimicrobiens synthétiques. 73

Tableau 12. CMB (CMF) des HEs de *M. suaveolens*, *L. stoechas* et *A. visnaga*. 78

Tableau 13. Effet bactéricide-fongicide/bactériostatique-fongistatique des HEs étudiées. 80

Tableau 14. Différentes combinaisons sélectionnées par le plan de mélange et la réponse observée pour chaque expérience. 81

Tableau 15. Analyse de la variance du modèle postulé pour le mélange testé sur *E. coli*. 82

Tableau 16. Analyse de la variance du modèle postulé pour le mélange testé sur *S. aureus*. 83

Tableau 17. Analyse de la variance du modèle postulé pour le mélange testé sur *P. aeruginosa*. 84

Tableau 18. Effets des coefficients du modèle qui relient la réponse aux facteurs contre *E. coli*. 85

Tableau 19. Effets des coefficients du modèle qui relient la réponse aux facteurs contre *S. aureus*. 86

Tableau 20. Effets des coefficients du modèle qui relient la réponse aux facteurs contre *P. aeruginosa*. 87

Tableau 21. Valeurs de l'angle de contact, paramètres d'énergie des surfaces non traitées et traitées des coupons en acier inoxydable 304L. 98

Tableau 22. CI_{50} des HEs et des antioxydants synthétiques contre le radical DPPH. 109

Tableau 23. CI_{50} des HEs et des antioxydants synthétiques contre le radical ABTS. 110

Tableau 24. Valeurs de CI_{50} des HEs testées et de l'acarbose contre l'activité enzymatique de α-amylase pancréatique. 117

Tableau 25. Valeurs de CI_{50} des HEs testées et de l'acarbose contre l'activité enzymatique de α-glucosidase intestinale. 118

Introduction générale

Le développement de la résistance aux antimicrobiens (RAM) est devenu un problème majeur de santé publique dans le monde entier, d'où la nécessité croissante de trouver des agents antimicrobiens nouveaux et efficaces (Achinas et al., 2019). Les antibiotiques actuels perdent de leur efficacité et peu de nouveaux médicaments sont mis au point pour les remplacer. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la RAM est responsable de 700 000 décès chaque année et devrait devenir l'une des principales causes de décès dans le monde d'ici 2050 (OMS, 2018). Ce problème est exacerbé par l'utilisation excessive et abusive des antibiotiques chez l'homme et l'animal, qui a conduit à la sélection de souches bactériennes résistantes (Otokunefor et al., 2023). Par ailleurs, les bactéries formant des biofilms occupent une place importante dans les infections hospitalières associées à une morbidité et une mortalité élevées en raison des options thérapeutiques limitées (Heidari et al., 2022). Les biofilms sont récalcitrants à l'antibiothérapie et constituent une cause majeure d'infections persistantes et récurrentes par des agents pathogènes dans le monde entier (Abebe, 2020; Alibi et al., 2020). En effet, la formation de biofilms et l'encastrement ultérieur des cellules bactériennes dans une matrice complexe peuvent renforcer la résistance aux antimicrobiens et aux désinfectants, ce qui rend ces microorganismes difficiles à éradiquer et à contrôler (Achinas et al., 2019; Craft et al., 2019). La matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS) protège les bactéries des antibiotiques, empêchant ainsi la pénétration de ces derniers à des concentrations bactéricides (Roy et al., 2022). Les bactéries présentes dans un biofilm sont plusieurs fois plus résistantes aux antibiotiques que les bactéries planctoniques. Par exemple, les biofilms peuvent tolérer des agents antimicrobiens à des concentrations de 10 à 1000 fois supérieures à celles nécessaires pour inactiver des bactéries planctoniques génétiquement équivalentes (Myszka et Czaczyk, 2011).

L'adhésion bactérienne aux surfaces des matériaux, qui conduit à la formation de biofilms, constitue un problème sérieux pour différentes applications biomédicales et industrielles (Bridier et al., 2015; Shi et Zhu, 2009). De manière générale, l'adhésion est considérée comme la phase initiale du processus d'établissement des biofilms, c'est-à-dire l'attachement non spécifique et réversible des micro-organismes aux surfaces (Floyd et al., 2017; Klančnik et al., 2021). Toutefois, plusieurs travaux ont montré que l'acier inoxydable 304L était vulnérable à la corrosion microbiologique, dans laquelle les microbes s'attachent aux surfaces des matériaux pour former des biofilms. Cela peut produire ou accélérer le processus de corrosion via l'interaction interfaciale avec les actions métaboliques des microbes (Dong et al., 2020).

Pour lutter contre le processus de corrosion de l'acier inoxydable, il est essentiel de cibler la phase cruciale du développement du biofilm, à savoir l'étape d'adhésion. Elle se caractérise par des connexions intercellulaires et des interactions cellule-surface (Huang et al., 2022).

Le terme "mélange" peut revêtir diverses significations selon le contexte, notamment en fonction de son utilisation et de sa production. De plus, il est possible de catégoriser les mélanges en binaires (composés de deux composants), ternaires (composés de trois composants), et ainsi de suite, en fonction de leur complexité. En réalité, la combinaison de ces composants peut engendrer une interaction additive, synergique ou antagoniste (Fadil et al., 2022). Une interaction est dite additive lorsque son effet combiné est la somme des actions de chaque composant de manière indépendante, synergique lorsque l'effet combiné est supérieur à la somme des actions individuelles, tandis qu'elle est antagoniste lorsque l'effet combiné est inférieur à la somme des actions individuelles (Chraibi et al., 2023). Au cours des vingt dernières années, l'utilisation de mélanges dans l'industrie alimentaire a suscité un intérêt croissant. En effet, la formulation d'un produit donné doit prendre en considération les composants utilisés, en particulier leur proportion relative dans le mélange (Fadil et al., 2022, El Hachlafi et al., 2023). L'application d'une méthodologie d'optimisation des mélanges pourrait avoir diverses applications technologiques dans le domaine alimentaire, contribuant ainsi à prolonger la durée de conservation des aliments, à améliorer l'emballage actif et à rehausser les propriétés sensorielles des produits (Mahmud et al., 2022). En outre, l'utilisation d'une approche de conception de mélange permet de réduire le nombre d'expériences et de prédire avec précision la combinaison optimale des HEs (Ez-zoubi et al., 2022).

En outre, le stress oxydatif déclenché par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou les radicaux libres s'est avéré être à l'origine de complications importantes pour la santé, en particulier chez les personnes atteintes de diabète (Forman et Zhang, 2021). Ce dernier est un trouble métabolique très répandu dans le monde, en particulier dans les pays en développement comme le Maroc. Il constitue un véritable fléau social dont les conséquences en termes de morbidité et de mortalité sont sévères. En effet, le pourcentage de citoyens marocains diabétiques dépasse 12,4 % de l'ensemble de la population (OMS, 2016), soit environ deux millions de personnes âgées de plus de 18 ans dont 50% ne connaissent pas leur maladie (MS, 2013). Ce qui engendre plus de 12 000 décès par an et indirectement 32 000 décès supplémentaires (OMS, 2016).

Depuis l'Antiquité, un grand nombre de plantes ont été utilisées par l'homme pour traiter divers problèmes de santé. En fait, plusieurs sociétés ont eu recours à la nature, et principalement aux

plantes médicinales, comme sources médicales et sanitaires (Eddouks et al., 2002; Giannenas et al., 2020). Aujourd'hui, un grand pourcentage de la population mondiale, en particulier dans les pays en développement, utilise ces plantes pour faire face aux besoins primaires d'assistance médicale. Il est estimé que dans les pays en développement, environ 80% de la population dépend des produits des plantes médicinales pour l'automédication (OMS, 2013).

Au Maroc, comme dans d'autres pays en développement, les plantes continuent de satisfaire un besoin thérapeutique important malgré le développement du système sanitaire moderne (Ajjoun et al., 2022; Bencheikh et al., 2021). Ces pratiques médicales populaires, bien ancrées dans la culture de cette société, étaient liées à la diversité ethnique, à l'histoire ancienne, aux croyances et aux conditions socioculturelles (Bellakhdar, 1997). Le Maroc possède non seulement une grande diversité culturelle, mais aussi une biodiversité végétale importante. Selon les dernières statistiques, la flore vasculaire du Maroc est estimée à 3913 espèces regroupées en 155 familles et 981 genres (Fakchich et Elachouri, 2021). Par ailleurs, le nombre de taxons endémiques strictement Marocains est d'environ 640, représentant 16,3% de la flore totale nationale (Salhi et al., 2010). Dans ce pays, la diversité de la flore a fourni de riches sources des plantes aromatiques et médicinales (environ 800 espèces), qui ont longtemps été utilisées par les cultures marocaines, et représente donc une médecine traditionnelle remarquable (Chaachouay et al., 2022).

Face à ce constat, le défi consiste à valoriser cette richesse tout en protégeant et en conservant les ressources naturelles par une utilisation rationnelle des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leurs huiles essentielles (HEs). Les HEs sont des métabolites secondaires qui jouent un rôle majeur dans l'adaptation des plantes à leur environnement en les protégeant contre les herbivores et les agents pathogènes (Angane et al., 2022; Gandhi et al., 2023).

Ce travail a été mené dans le cadre d’une thèse de doctorat réalisée au sein du laboratoire de biotechnologie microbienne et molécules bioactives et a pour objectif d’une part à approfondir les connaissances sur huiles essentielles de trois plantes aromatiques et médicinales, à savoir *Mentha suaveolens*, *Lavandula stoechas* et *Ammi visnaga* par la caractérisation de leurs compositions chimiques et l’étude de leurs pouvoir antimicrobiens, antibiofilms, antioxydants et antidiabétiques, et d’autre part, à mettre en évidence l’effet antibactérien combinatoire de ces HEs, en développant des formulations optimales contre la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* à la surface de l'acier inoxydable (304L SS) par le biais d'une méthodologie de conception de mélanges.

Pour atteindre ces objectifs, notre travail de recherche sera structuré de façon graduelle en 7 axes :
Le 1er axe reporte une étude bibliographique traitant les différentes connaissances liées aux HEs, de la définition, la chimie et voie de biosynthèses, l'extraction, facteurs influençant la composition chimique, jusqu'aux différentes mécanismes d'action. De plus, un rappel sur leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, antibiofilms, antidiabétiques est présenté. Ainsi que la description des caractères botaniques et la systématique des trois espèces végétales étudiées, leur répartition géographique, et finalement un aperçu global sur l'état des connaissances des plantes médicinales étudiées.
Le 2ème axe comporte la récolte, l'extraction, l'analyse de la composition chimique des trois huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM), afin d'identifier le chémotype de chaque HE.
Le 3ème axe décrit l'évaluation de l'activité antimicrobienne contre 12 souches et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), la concentration minimale bactéricide (CMB) /fongicide (CMF) et de l'effet bactéricide (fongicide)/ bactériostatique (fongistatique).
Le 4ème axe développe les formulations des HEs étudiées afin d'optimiser leurs effets antibactériens, en se basant sur la détermination de la CMI des mélanges établis à l'aide d'une méthodologie de conception de mélanges.
Le 5ème axe traite l'effet antibiofilm / antiadhésif des HEs pures et leurs formulations optimales développées dans l'axe précèdent contre les souches *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* formé à la surface de l'acier inoxydable (304L SS).
Le 6ème axe décrit l'activité antioxydante des HEs étudiées à l'aide de quatre tests complémentaires : les tests 2,2′-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS), pouvoir réducteur, et β-carotène.
Le 7ème axe donne un aperçu sur l'activité antidiabétique in vitro des HEs étudiées à travers leurs actions inhibitrices des activités enzymatiques de l'α-amylase et de l'α-glucosidase.
A la fin, le manuscrit est terminé par une conclusion générale et une présentation des perspectives envisagées.

Partie I : Revue bibliographique

I. Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles (HEs) sont des métabolites secondaires des plantes, indispensables aux mécanismes de leur survie, produites et stockées dans des structures sécrétoires spécialisées réparties dans toute la plante (Jugreet et al., 2020). Les HEs sont des composés organiques volatils naturels présents dans toutes les parties de la plante (graines, fleurs, tige, écorc et feuilles, ect) (Bhavaniramya et al., 2019a). Le niveau de leur sécrétion dépend du stade phénologique de la plante (Tohidi et al., 2019). À la fin du XIXe siècle, les HEs ont été incluses en tant que médicaments en raison de leurs vastes propriétés thérapeutiques. Environ 3000 HEs ont été répertoriées précédemment et près de 350 HEs sont souvent utilisées dans les parfums pour leur arôme excessif (Gandhi et al., 2023). Parmi les composés actifs des HEs, on trouve diverses classes chimiques, telles que les alcools, les aldéhydes, les éthers, les cétones, les esters, les phénols, et les terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes) (Bouyahya et al., 2021; Jassbi et al., 2012; Mahboubi, 2021; Tohidi et al., 2019).

1. Chimie des huiles essentielles

Les HEs sont des mélanges complexes, constituées de composés organiques volatils, généralement de faible poids moléculaire. La pression de vapeur suffisamment élevée des HEs à la pression atmosphérique et à la température ambiante, les rend partiellement à l'état de vapeur (Dhifi et al., 2016). Généralement, les HEs contiennent environ 20 à 60 composants, voire plus de 100 composants individuels, à des concentrations très différentes ; deux ou trois d'entre eux sont des composants majeurs à des concentrations assez élevées (20 à 70 %), tandis que d'autres sont présents à l'état de traces (Osaili et al., 2023). Les principaux constituants des HEs peuvent être classés en deux familles structurelles en fonction de leur squelette hydrocarboné, à savoir (1) les terpénoïdes, produits par la combinaison de deux (monoterpène), trois (sesquiterpène) ou quatre (diterpène) unités isoprènes, et (2) les phénylpropanoïdes. Cependant, les deux familles sont constituées de composés phénoliques, parfois identifiés comme des constituants primaires de plusieurs HEs (Nieto et al., 2018).

Les phénylpropanoïdes et les terpénoïdes ont des précurseurs métaboliques primaires distincts et sont biosynthétisés par des voies différentes (Sadgrove et al., 2022).

1.1 Biosynthèse des terpènes

Les précurseurs de l'isoprène, de l'isopentényle et du diphosphate de diméthylallyle sont produits par deux voies biochimiques distinctes, à savoir les voies de l'acide mévalonique (MVA) (figure 1) et du 2C-méthyl-D-érythritol-4-phosphate (MEP) (Bergman et al., 2019).

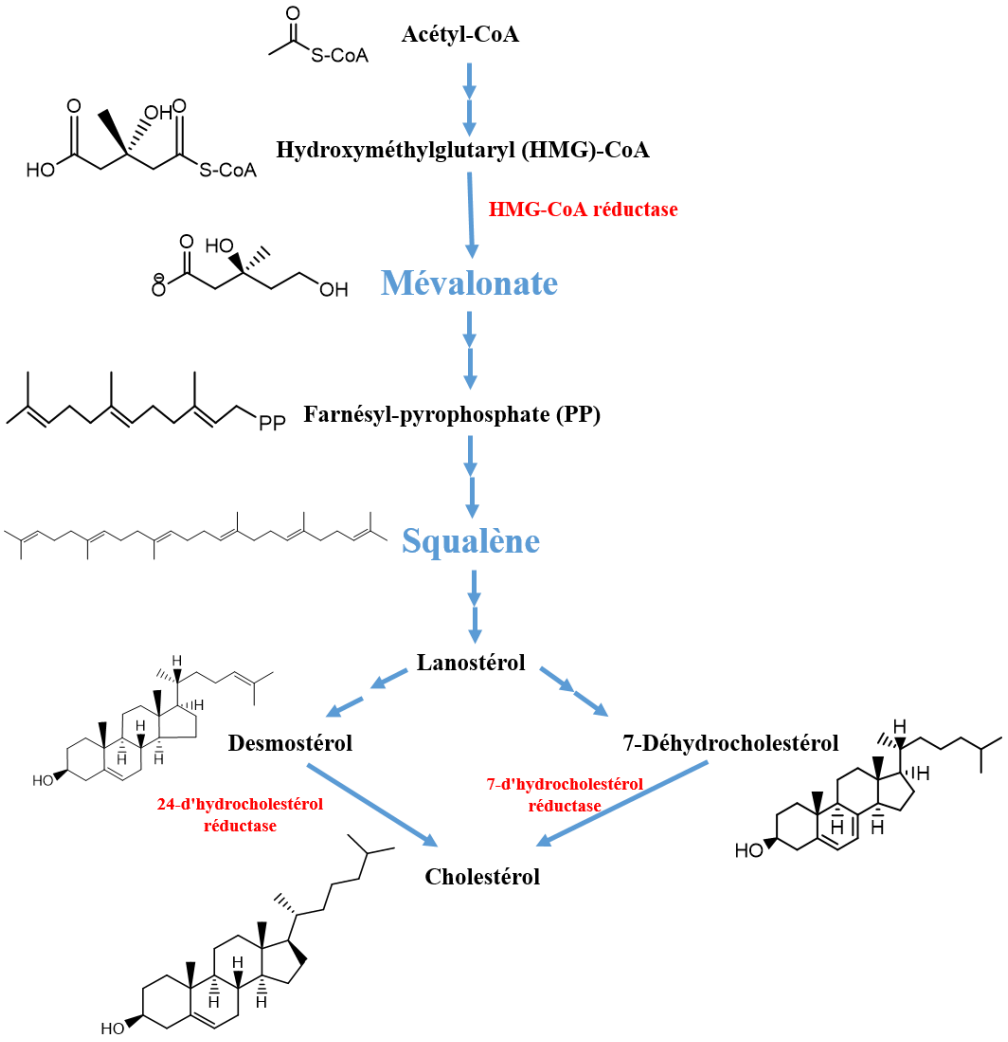


Figure 1. Etapes biosynthétiques de la voie de l'acide mévalonique pour la synthèse des terpènes (adapté par El Hachlafi Naoufal).

La voie MVA est active chez tous les eucaryotes, mais la voie MEP est limitée à une sélection d'organismes, notamment les algues et les plantes supérieures (Zhao et al., 2013). La voie MVA commence par la condensation de petits groupes acétyles clivés à partir de l'acétyl coenzyme A, une molécule de plus grande taille.

La condensation des groupes acétyles à partir de deux unités de carbone pour produire des chaînes dikétides justifie la formation des alcanes naturels avec des nombres pairs de carbone (Zhao et al., 2013). Cependant, dans la synthèse des terpènes, la condensation s'arrête à six carbones. Après la formation du 5-phosphate ou du diphosphate de mévalonate, l'élimination enzymatique du groupe acide ionisé supprime un carbone, réduisant l'intermédiaire à une unité 2-méthyl à cinq carbones, qui est l'unité fondamentale de tous les terpènes (Bergman et al., 2019).

1.2 Biosynthèse des phénylpropanoïdes

La voie du shikimate responsable de la biosynthèse de tous les phénylpropanoïdes, est principalement active dans les plastes, d'où proviennent plusieurs des enzymes primaires (Vogt, 2010). La voie du shikimate produit de nombreuses classes de composés, comme les phénols, les phloroglucinols, la lignine, les flavonoïdes, les acides aminés, etc. Plusieurs étapes importantes dirigent la synthèse vers les phénylpropènes (Sadgrove et al., 2022). Un exemple de cette étape est la conversion de la phénylalanine ou de la tyrosine, modulée par les acides aminés aromatiques lyases. Le cinnamate qui en résulte est ensuite converti en p-coumaroyle par l'enzyme "cinnamate 4-hydroxylase", puis le coenzyme A est estérifié sur le groupe acide par la 4-coumaroyl CoA ligase (figure 2) (Lombard and Moreira, 2011).

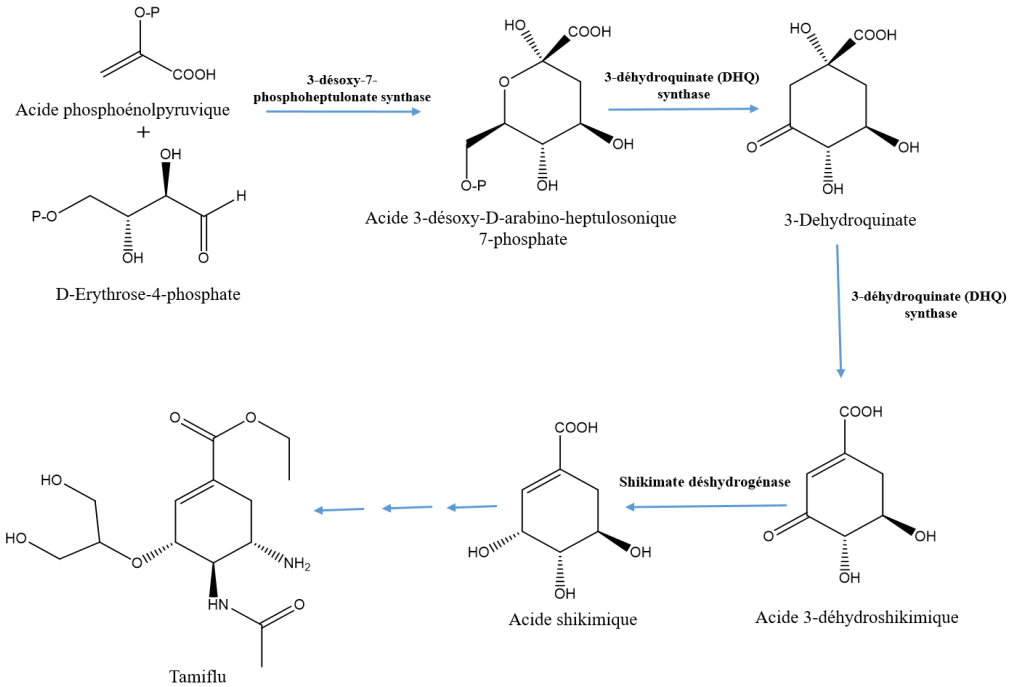


Figure 2. Voie de biosynthèse de l'acide shikimique produisant des phénylpropanoïdes.

La diversité des composés organiques volatils de cette famille est ensuite contrôlée par les différents gènes spécifiques au genre codant pour les oxygénases, les réductases et les transférases qui créent les groupes fonctionnels responsables de cette diversité (Santos-Sánchez et al., 2019).

2. Extraction des huiles essentielles

Les HEs sont utilisées dans une large gamme de produits commerciaux, notamment les détergents, les savons, les cosmétiques, les produits pharmaceutiques, les parfums et les fongicides. Le développement et l'utilisation des HEs et des parfums dans le monde entier connaissent une croissance rapide. Le processus de production est un élément important pour améliorer la qualité et le rendement des HEs (Jugreet et al., 2020; Osaili et al., 2023), qui sont produites par de nombreuses techniques d'extraction à partir de matières premières végétales. Les techniques d'extraction comprennent l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur, l'extraction par solvant, la cohobation et la macération, etc (Reyes-Jurado et al., 2020).

Toutefois, ces techniques présentent certains inconvénients tels qu'une faible efficacité, un temps d'extraction long, une perte de composés volatils, une dégradation des composés insaturés et des résidus de solvants toxiques (Tavakolpour et al., 2017). Des techniques alternatives et avancées telles que le fluide supercritique, l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction assistée par ultrasons ont été développées pour surmonter les problèmes susmentionnés (Chemat et al., 2017).

3. Facteurs influençant la composition chimique des HEs

Différentes techniques peuvent être utilisées pour extraire les HEs selon les variétés des plantes et selon l'hydrophobie/hydophilie des composants recherchés, sans oublier l'état et la localisation de ces plantes. La méthode d'extraction est l'un des principaux facteurs qui déterminent la qualité des HEs (Burt, 2004; Tavakolpour et al., 2017). Des méthodes et des procédés d'extraction inappropriés peuvent entraîner la destruction ou la modification des constituants chimiques des HEs, ce qui se traduit par la perte de leurs propriétés biologiques et naturelles. Dans les cas extrêmes, il peut se produire une décoloration, une altération de la saveur et des changements physiques qu'il convient d'éviter lors de l'extraction des HEs (Pateiro et al., 2018).

Le changement de l'environnement géographique est un facteur clé qui affecte l'écosystème. Sous l'influence des facteurs environnementaux, les HEs extraites des mêmes parties des mêmes plantes dans différentes régions peuvent présenter des différences significatives en termes de composition chimique et de qualité (El-Tarabily et al., 2021).

L'effet du cycle de croissance des plantes sur la composition chimique des HEs extraites des plantes a été signalé dans des études antérieures (Ni et al., 2021). Les effets de trois phases de croissance différentes de *Daucus sahariensis* Murb. sur la composition et le rendement des HEs ont été examinés par le biais d'une analyse GC-MS (Flamini et al., 2013). En outre, les hydrocarbures monoterpéniques étaient plus représentatifs dans les huiles de plantes collectées au stade du bourgeon et de la floraison entière. En revanche, au cours de la période fructifère, l'huile contenait principalement du phénylpropane (Flamini et al., 2013). Alors que la teneur en myrcène a diminué de manière significative entre le stade de croissance et le stade de reproduction. Par ailleurs, au stade de floraison (0,27%), le rendement en huile était assez faible, mais il a augmenté rapidement au cours du développement de la plante. Les rendements de la floraison et de la fructification étaient respectivement de 0,63% et 0,68% (Flamini et al., 2013).

Le processus de séchage est également indispensable à l'extraction des HEs. La durée et la température du séchage peuvent affecter la composition quantitative et qualitative des HEs (Ni et al., 2021). De nombreuses méthodes de séchage ont été utilisées à ce jour, notamment les séchages à température ambiante, par ventilation, à la chaleur ainsi que la lyophilisation (Mighri et al., 2009). Le choix du processus de séchage approprié peut avoir un impact significatif sur la qualité finale des HEs.

4. Pouvoir antimicrobien des HEs

4.1 Résistance aux antimicrobiens

Les agents antimicrobiens sont utilisés depuis des siècles. En effet, à la fin des années 1920, Alexander Fleming a découvert la pénicilline, qui a été par la suite préparée pour être utilisée dans les traitements depuis les années 1940 (Ventola, 2015). Ensuite, divers antibiotiques disponibles sur le marché ont été rapidement utilisés pour traiter les maladies infectieuses (Debabov, 2013; Kimera et al., 2020). Fleming a prédit la résistance aux antimicrobiens en pensant que « l'utilisation inappropriée de la pénicilline pourrait entraîner la mutation de *Staphylococcus aureus*, ce qui se traduirait par des infections plus graves et la transmission de souches résistantes d'un hôte à l'autre » (Rosenblatt-Farrell, 2009; Veepanattu et al., 2020). Dans les années 1940, la résistance à la pénicilline a été démontrée (Ventola, 2015). De nombreuses souches de *Staphylococcus* sont devenues résistantes à la pénicilline (Lobanovska et Pilla, 2017), et rapidement > 50 % des souches étaient résistantes (Alanis, 2005).

La production mondiale annuelle d'antibiotiques est d'environ 100 000 tonnes (Martens et Demain, 2017), six tonnes étant utilisées toutes les 30 minutes (Tanwar et al., 2014). Non seulement *S. aureus* a acquis une résistance, mais de nombreuses souches sont devenues multirésistantes (MDR) (Nikaido, 2009). La multirésistance (MDR) est une tolérance d'un agent infectieux à trois familles d'agents antimicrobiens (Magiorakos et al., 2012).

Dans le monde entier, la prolifération rapide des souches MDR entraîne l'apparition de plusieurs infections nosocomiales graves. De plus en plus, les micro-organismes échappent au contrôle des agents antimicrobiens, ce qui entraîne une gestion inefficace, une persistance et une propagation de l'infection (Tanwar et al., 2014). Aux États-Unis, on dénombre chaque année plus de 63 000 infections bactériennes nosocomiales mortelles (Aminov, 2010). Au sein de l'Union européenne, les infections MDR sont à l'origine d'environ 25 000 décès de patients par an (Mahnert et al., 2019). Les infections à MDR augmentent les coûts des soins de santé et diminuent la productivité, avec un coût annuel d'environ 1,5 milliard d'euros chaque année (Mahnert et al., 2019). À l'échelle mondiale, MDR pourrait entraîner plus de 10 millions de décès par an d'ici 2050, dépassant le cancer comme principale cause de décès (O'Neill et al., 2014). En conséquence, des mesures doivent être prises immédiatement contre la menace de MDR (Nikaido, 2009). En outre, le contrôle des bactéries MDR nécessite des découvertes thérapeutiques cruciales, un meilleur contrôle des infections et des pratiques antimicrobiennes avancées (Santajit and Indrawattana, 2016).

4.2 Causes majeures de la résistance aux antimicrobiens

La cause la plus importante de la multirésistance est l'utilisation inappropriée et la surutilisation des antibiotiques (Nikaido, 2009). Depuis l'introduction des antibiotiques, leur consommation abondante a joué un rôle énorme dans le développement de MDR (Ventola, 2015). La résistance génétique naturelle, les biocides et les métaux y contribuent aussi (Singer et al., 2016). En effet, les biocides provenant des déchets ménagers, des eaux de drainage et des émissions des routes et du trafic, tels que la chlorhexidine, l'éthanol, le formaldéhyde, les métaux, les composés d'ammonium quaternaire et le triclosan, favorisent la co-sélection des gènes qui promeuvent la résistance (Singer et al., 2016). La résistance aux antimicrobiens a également été exacerbée par l'exposition excessive aux antimicrobiens dans l'agriculture. La plupart de ces antimicrobiens sont similaires, voire identiques, à ceux utilisés en clinique. La principale voie de transmission des MDR est la chaîne alimentaire (Zaman et al., 2017), car des doses sublétales d'antibiotiques

sont constamment utilisées dans l'agriculture, l'élevage et la pêche pour traiter les infections, prévenir les maladies et stimuler la croissance (Zaman et al., 2017). Il en résulte une microflore intestinale très résistante aux antibiotiques (Gupta et Deka, 2018).

4.3 Mécanismes de résistance bactérienne

La résistance bactérienne dépend de l'efficacité des produits antimicrobiens et sur les mécanismes de résistance des micro-organismes (Levy et Marshall, 2004). De nombreux mécanismes de résistance ont été décrits, et malheureusement, plusieurs antibiotiques n'ont surmontés l'un de ces mécanismes (Gupta et Deka, 2018). La résistance est basée sur la génétique bactérienne et/ou le mécanisme (Munita et Arias, 2016). La résistance génétique peut être acquise ou intrinsèque (Peterson et Kaur, 2018). Les tactiques intrinsèques comprennent l'utilisation de pompes d'efflux génériques pour faire sortir les antimicrobiens de la cellule, l'inactivation enzymatique du médicament et la diminution de la perméabilité qui réduit la pénétration (Peiffer-Smadja et al., 2020). Les mécanismes acquis comprennent des enzymes qui modifient les médicaments et l'efflux codé par des plasmides (Peterson et Kaur, 2018). Des voies métaboliques alternatives peuvent également être utilisées par les bactéries pour modifier la cible des médicaments et empêcher leur fixation (Tenover, 2006), ou l'enzyme cible est surexprimée pour réduire l'impact de l'inhibition de l'antibiotique (Palmer et al., 2007). Les différents mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques sont illustrés dans la figure 3.

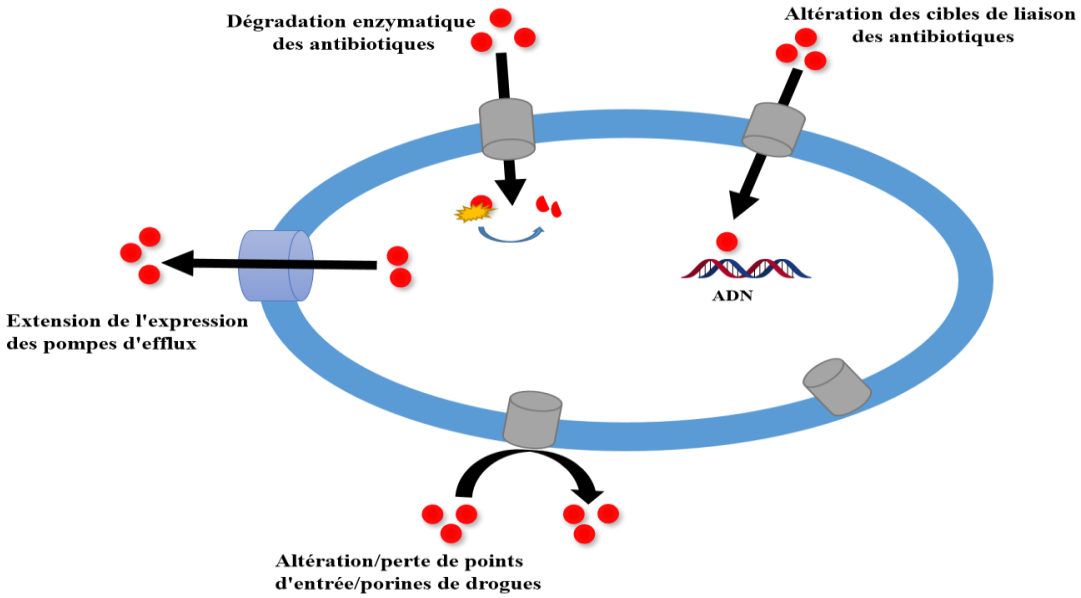


Figure 3. Différents mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques (adapté par El Hachlafi Naoufal).

4.4 Biofilms

Les biofilms sont constitués de bactéries en populations denses et sont protégés par une matrice exopolymère robuste irréversiblement attachée à une surface. La formation de biofilms entraîne l'échec des agents antimicrobiens, et 60 à 75 % des infections peuvent être dues à la formation de biofilms (El-Tarabily et al., 2021; Palmer et al., 2007). Les biofilms sont considérés comme des salissures biologiques dans le contexte des surfaces industrielles artificielles, mais ils ont également été impliqués dans des infections bactériennes chroniques (Koo et al., 2017).

La capacité à former un biofilm est une préoccupation importante, et la résistance d'un biofilm est soutenue par des mécanismes génétiques, physiques et physiologiques (Ciofu et Tolker-Nielsen, 2019). Les cellules bactériennes à l'intérieur des biofilms sont plus résistantes à la présence de conditions de stress ou aux systèmes immunitaires de l'hôte. La formation d'un biofilm bactérien est induite par la communication via le quorum sensing (QS), le mécanisme de signalisation chimique intercellulaire utilisé pour contrôler la densité cellulaire (Gerdt et Blackwell, 2014). Les biofilms nécessitent une densité suffisante pour induire une accumulation de signaux QS qui se traduira ensuite par l'expression de gènes. De nombreux gènes activés par le QS sont bénéfiques, par exemple pour la sécrétion de protéases, de sidérophores et de toxines (Gerdt et Blackwell, 2014).

4.4.1 Étapes de la formation des biofilms

La formation et la survie des biofilms se font par attachement (adhésion)/détachement, croissance et maturation (Peiffer-Smadja et al., 2020).

L’adhésion dépendant de nombreux facteurs pour un développement réussi (Gerdt et Blackwell, 2014). Les biofilms ont besoin d'un flux constant de nutriments à l'intérieur du biofilm et de déchets à l'extérieur du biofilm. En outre, une communication efficace au sein du biofilm est nécessaire. Pour terminer le cycle, le détachement des cellules est nécessaire pour commencer un nouveau cycle. Les biofilms contiennent souvent un mélange d'espèces (Shi et Zhu, 2009), ce qui nécessite un QS, une coopération métabolique et des interactions compétitives ou synergiques (El-Tarabily et al., 2021). Les étapes de la formation d'un biofilm sont décrites dans la figure 4.

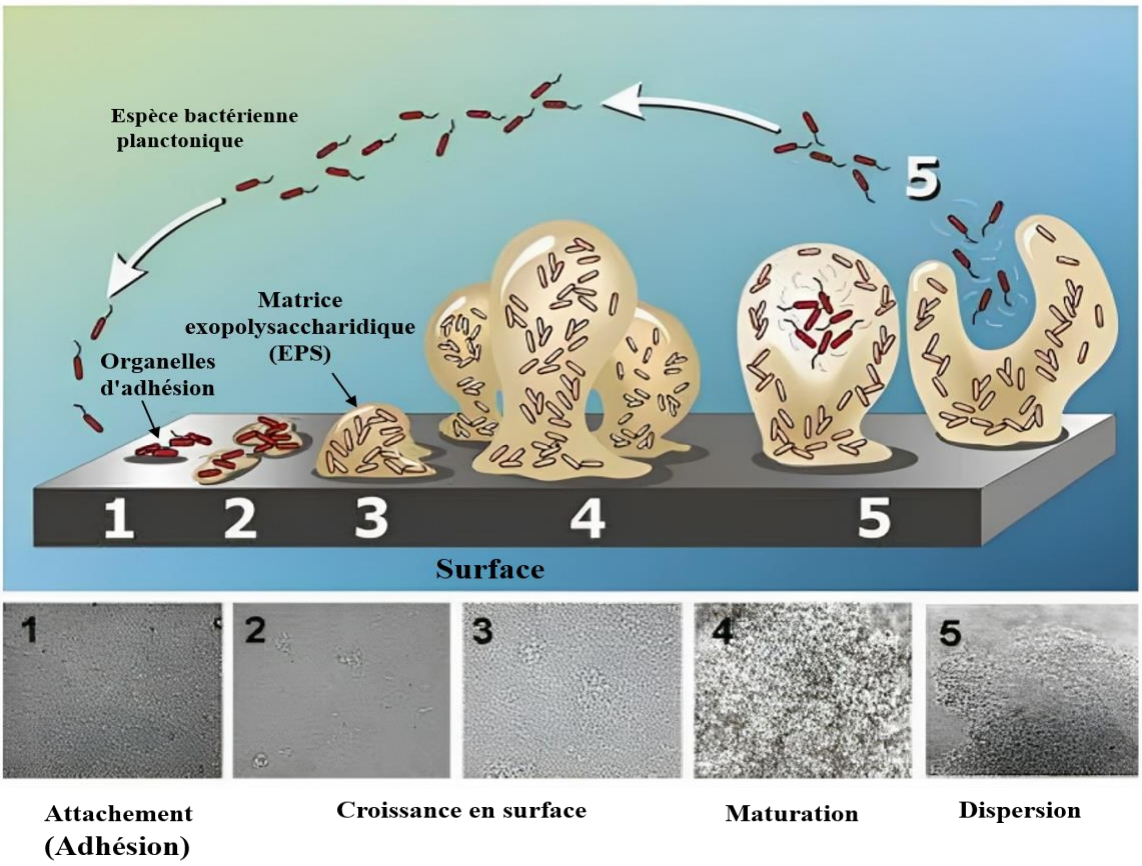


Figure 4. Étapes de la formation des biofilms (adapté par El Hachlafi Naoufal).

a. Attachement

L'attachement bactérien nécessite une surface hydrophobe idéale présentant une rugosité à l'échelle nano ou micro pour déclencher les facteurs de détection de surface qui contrôlent l'adhérence (Ciofu et Tolker-Nielsen, 2019). Avec une charge négative globale, les surfaces naturelles ont une force répulsive envers les charges électrostatiques utilisées pour l'adhésion bactérienne. Les forces attractives telles que les forces acido-basiques de Lewis, les forces de Lifshitz-van der Waals et les forces hydrophobes sont utilisées pour l'adhésion (Van-Merode et al., 2006). Le transport convectif dans un fluide en vrac, le mouvement brownien ou la sédimentation par gravité spécifique transportent les bactéries vers les surfaces (Palmer et al., 2017). La formation d'un biofilm commence par une cellule bactérienne planctonique qui forme une attache polaire réversible et s'aligne à plat sur la surface pour résister à l'enlèvement (Bridier et al., 2015). Chez les bactéries flagellées, le détachement du flagelle, médié par le diguanylate cyclique, commence après l'attachement, alors que l'agrégation des cellules commence (Lakoh et al., 2020).

Une organisation intercellulaire solide est nécessaire pour l'attachement irréversible des cellules, impliquant des protéines de liaison, l'hydrolyse enzymatique des molécules d'adhésion et l'adsorption de protéines (Heidari et al., 2022). Les processus d'attachement sont régulés par les niveaux de carbone et d'oxygène, le pH, le débit, la disponibilité des nutriments et la température (Abebe, 2020).

b. Croissance et maturation

Le début de la croissance du biofilm implique une induction du QS, le développement de micro-colonies et la formation d'un revêtement polymère extracellulaire, conduisant à une structure 3D d'amas cellulaires (Arunasri et Mohan, 2019; Toyofuku et al., 2016). Les micro-colonies s'étendent à mesure que les cellules se répliquent par division cellulaire (Toyofuku et al., 2016) et génèrent des composants extracellulaires, formant un revêtement de glycoprotéines/glycolipides, à la suite de l'interaction avec les matériaux organiques et inorganiques (El Omari et al., 2022). La matrice exopolysaccharidique (EPS), semblable à un gel, a une forte teneur en eau. L'une des fonctions de l'EPS est de protéger les cellules microbiennes de la dessiccation (Achinas et al., 2019). Les biopolymères de l'EPS se composent de glycoprotéines, de protéines, de polysaccharides, d'ADN extracellulaire et de glycolipides avec des canaux pour le transport des nutriments et de l'eau, et l'élimination des déchets (Arunasri et Mohan, 2019). Un doublement de la masse d'EPS se produit souvent à l'approche de la maturation (Jiao et al., 2010), mais il dépend de la souche bactérienne et des facteurs environnementaux (Kimera et al., 2020).

c. Détachement et dispersion

Le détachement et la dispersion des biofilms se produisent quand la synthèse des composés de la matrice est interrompu, activant la dégradation de la matrice du biofilm et perturbant les liens covalents entre les composants de la matrice (Jiao et al., 2010). La dispersion, le détachement ou la désorption sont des moyens par lesquels les bactéries peuvent quitter activement ou passivement un biofilm (Abebe, 2020). Les cellules bactériennes s'échappent activement et sont influencées par des forces externes, notamment la prédation, le cisaillement des fluides et l'intervention humaine, y compris l'abrasion et l'érosion (Klančnik et al., 2021). Ces types de mécanismes de fuite sont généralement induits par des pressions de sélection bactériennes et une stratégie de survie établie (Kimera et al., 2020). Lorsque la masse critique est atteinte, la couche externe du biofilm connaît un équilibre dynamique et des cellules planctoniques sont générées (Palmer et al., 2007).

La libération des cellules des couches externes d'un biofilm est une méthode standard de détachement, mais l'évasion se produit également à l'intérieur du biofilm par dispersion. Les cellules se déplacent librement vers la surface de la colonie et le cycle se répète (Roy et al., 2022).

4.4.2 Tolérance du biofilm

La couche d'EPS sécrétée pendant la maturation est la principale cause de la tolérance du biofilm aux antimicrobiens ; car elle protège le biofilm et empêche ou retarde l'infiltration des antimicrobiens (Heidari et al., 2022). Une croissance lente du biofilm peut également réduire la pénétration des agents antimicrobien (El Omari et al., 2022). La limitation des nutriments entraîne une réduction du taux de croissance, ce qui augmente la résistance à l'approche de la phase stationnaire (Roy et al., 2022). Une croissance lente se produit dans les sections plus denses du biofilm, tandis qu'un taux de croissance plus rapide se produit lorsque les bactéries sont exposées à un milieu en vrac (Toyofuku et al., 2016). La réponse générale au stress du biofilm peut également accroître la résistance (Myszka and Czaczyk, 2011). Les facteurs de stress induisent de nombreuses altérations physiologiques pour protéger les cellules de la carence en nourriture, du choc thermique, des altérations du pH et de l'osmolarité, ou des dommages à l'ADN (Roy et al., 2022).

4.5 Mécanisme de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

L'activité antibactérienne des HEs est principalement due à la présence de composés volatils comme les terpènes, les alcools, les acides, les esters, les époxydes, les aldéhydes, les cétones, les amines et les sulfures terpinéol, p-cymene, camphène, hinokitiol, thujanol, myrcénol, néral, thuyone, camphre et carvone (Balahbib et al., 2021; Chraibi et al., 2023; Hachlafi et al., 2021). Il a été constaté que les HEs peuvent posséder des propriétés antimicrobiennes qui pourraient remplacer les antibiotiques synthétiques conventionnels (El Omari et al., 2022).

De nombreuses mécanismes d’action de l'activité antimicrobienne des HEs ont été développées. Les HEs déstabilisent d'abord le complexe cellulaire, ce qui entraîne la rupture de la surface de la membrane cellulaire et une perméabilité accrue qui interrompt les diverses actions cellulaires, à savoir le processus d'énergie, le transport membranaire et d'autres fonctions de régulation basées sur le métabolisme (Hou et al., 2022). L'interruption de la surface cellulaire par les HEs peut soutenir divers processus importants comme l'alimentation, l'énergie, les processus des substances structurelles et l'exsudation de la régulation de la croissance (Reyes-Jurado et al., 2020).

Les HEs peuvent perturber la surface extérieure de la cellule ainsi que sa paroi cytoplasmique (Nazzaro et al., 2013). En raison de leur nature hydrophobe, elles pénètrent simplement dans les composantes cellulaires microbiennes. Les HEs de nombreuses plantes médicinales et aromatiques sont réputées produire une perméation accrue de la membrane cellulaire microbienne, ce qui entraîne une fuite des substances cellulaires et un manque d'ions (Angane et al., 2022).

L'effet antimicrobien des HEs est lié à la diminution des potentiels membranaires, à une altération du transport des protons et à la destruction de l'ATP (El-Tarabily et al., 2021). De même, une étude a examiné l'huile d'arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*) qui supprime la progression de *S. aureus* et *E. coli* en modifiant la perméation cellulaire, en augmentant l'épuisement des ions potassium cellulaires internes (Yu et Shi, 2021) et en perturbant l'organisation d'acides gras, de lipides et de polysaccharides non similaires (Baptista-Silva et al., 2020). Tout ce processus peut être utilisé pour la coalescence des composés intracellulaires dans le cytosol et la rupture des liens entre les récepteurs et les couches lipidiques (figure 5).

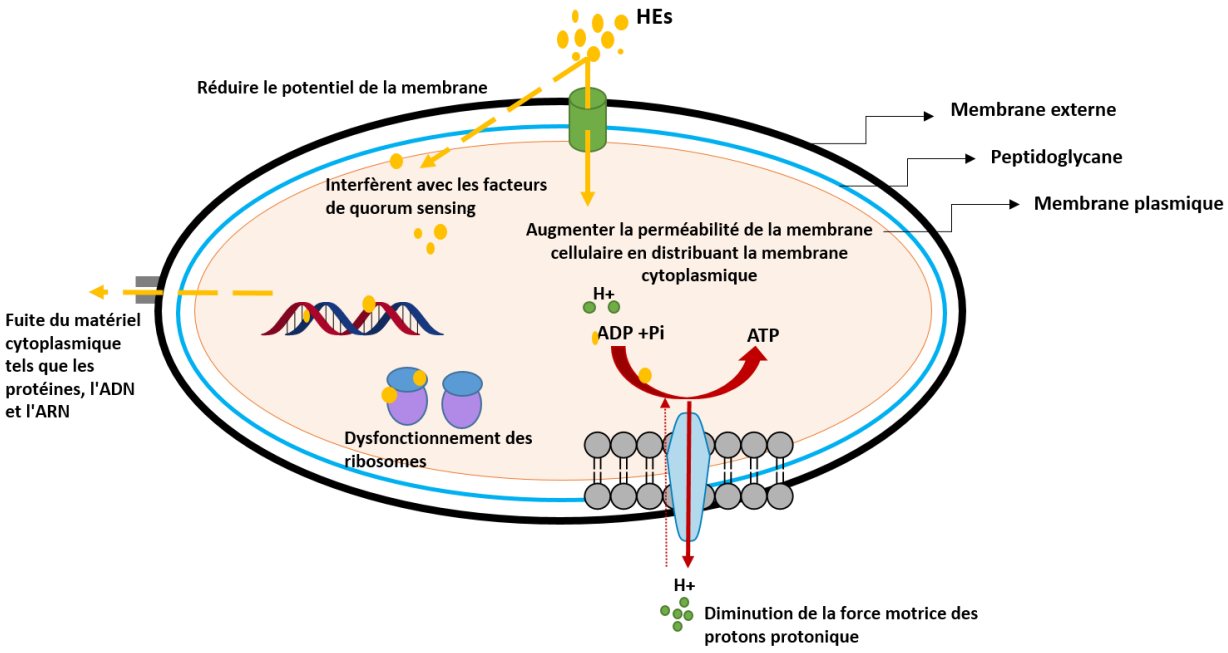


Figure 5. Mode d'action antibactérien des HEs (adapté par El Hachlafi Naoufal).

Les HEs inhibent la croissance bactérienne, en ciblant de multiples voies, y compris l'inhibition des facteurs de quorum sensing (l'inhibition de la formation de biofilms), la fuite du matériel cytoplasmique tels que les protéines, l'ARN et l'ADN, l'augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire et la réduction de la force protonique.

Dans certains cas, les composés bioactifs des HEs présentent une meilleure activité antimicrobienne. L'activité antimicrobienne des composants des HEs comme le thymol et le menthol est due à une perturbation des fractions lipidiques des membranes cellulaires microbiennes (Burt, 2004). Elle peut influencer l'intégrité de la membrane et provoquer la libération de substances endothéliales. Le carvacrol est une substance lipophile qui régule les parois cellulaires en modifiant le profil des acides gras, ce qui influe sur la flexibilité et la perméabilité de la membrane. Le mode d'action précis reste donc incertain (Hou et al., 2022). Il a été prouvé que le carvacrol inhibe l'épuisement des cellules bactériennes par le pool d'ATP intrinsèque (Hou et al., 2022). Le carvacrol a déclenché l'épuisement et la défaillance de l'ATP chez les espèces microbiennes. Les molécules comprenant le méthyl carvacrol, le menthol, le citronellol et le thymol induisent également une expansion de la paroi cellulaire qui correspond à un mouvement ionique passif parmi les phospholipides élargis (Angane et al., 2022).

Le pouvoir des HEs sur la membrane cellulaire consiste à supprimer la sécrétion de toxines. En effet, le carvacrol a empêché le développement de toxines, et l'utilisation d'huile d'origan a éliminé le développement d'entérotoxines de *S. aureus* (El Omari et al., 2022). Ainsi, les modifications des membranes cellulaires qui interdisent la sécrétion de polluants sont attribuées à la prédominance des substances des HEs au niveau des étapes du transport membranaire transcellulaire dans la membrane cellulaire qui limite la fuite des toxines vers la surface externe (Bhavaniramya et al., 2019). Un autre composé volatil, le trans-cinnamaldéhyde, atteint le périplasme de la cellule et détruit les composants cellulaires. Néanmoins, le p-cymène a un lien étroit avec les membranes biologiques et peut donc perturber la stabilité des membranes (Álvarez-Martínez et al., 2021). Il a également été démontré que le carvéol et la carvone modifient l'hydrophobicité et perturbent la fluidité structurelle, ce qui contribue à la fuite des ions potassium (Álvarez-Martínez et al., 2021).

L'efficacité des propriétés antimicrobiennes des HEs ou de leurs composés bioactifs peut varier d'un micro-organisme à l'autre. Il est donc important d'élucider le mode d'action précis de chaque HE et de ses molécules, notamment par une analyse plus poussée des nombreuses souches ou espèces bactériennes. En outre, une analyse approfondie des composants des HEs permettra d'améliorer notre connaissance sur les mécanismes de leurs activités antibactériennes.

5. Pouvoir antioxydant des HEs

5.1 Stress oxydatif

Les radicaux libres s'accumulent en tant que sous-produits naturels des voies métaboliques, entraînant un stress oxydatif dans l'organisme (Pateiro et al., 2018). Ce stress peut également provenir de sources externes telles que la pollution, la fumée de cigarette, les radiations et les médicaments, entraînant des dommages cellulaires. Par définition, le stress oxydatif (SO) se caractérise par un déséquilibre entre la production et la dégradation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou des espèces réactives de l'azote (RNS) (Forman et Zhang, 2021). Le stress oxydatif est à la base de processus dégénératifs tels que la peroxydation des lipides, la glycation/oxydation et la nitration des protéines, l'inactivation des enzymes et les dommages à l'ADN qui se produisent dans de nombreuses maladies non transmissibles, telles que le diabète, le cancer, les troubles auto-immuns, les maladies liées à l'âge, la cataracte, l'arthrite rhumatoïde, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (Aruoma, 1998; García-Sánchez et al., 2020) (Figure 6).

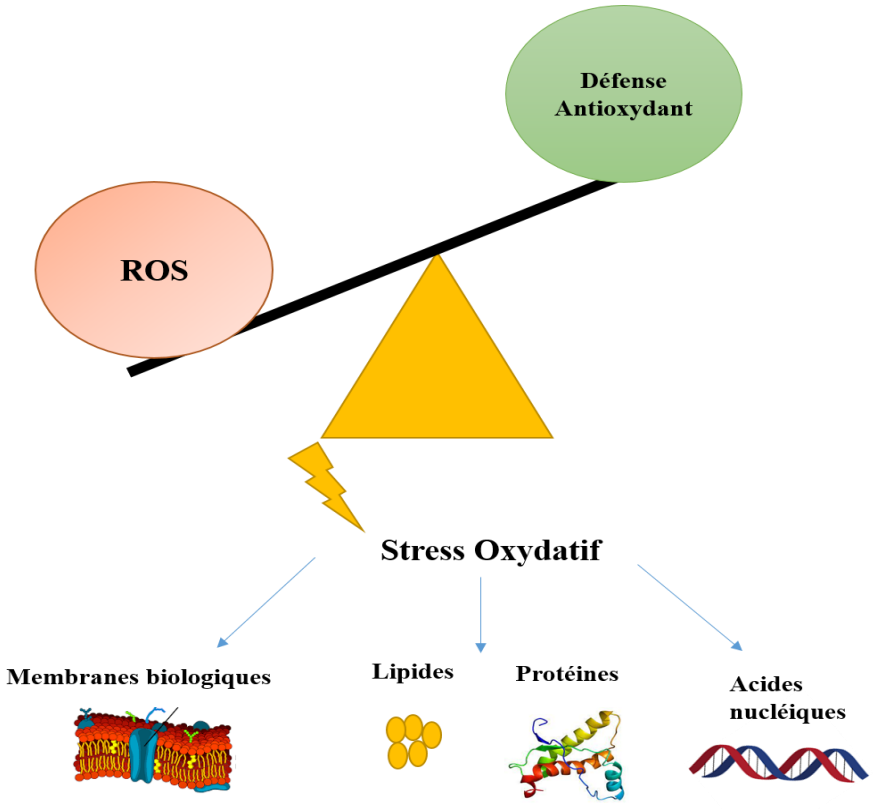


Figure 6. Schéma illustrant le stress oxydant (adapté par El Hachlafi Naoufal).

Certaines molécules uniques des HEs, comme le géraniol, traversent facilement la barrière hémato-encéphalique et atteignent ensuite tous les organes dans lesquels elles peuvent exercer leurs activités antioxydantes (Pisoschi et al., 2021).

5.2 Mécanisme des antioxydants dans le corps humain

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) proviennent de l'augmentation de l'activité mitochondriale en tant que sous-produits et favorisent le stress oxydatif dans les cellules. Lorsque le niveau de ROS est faible, la réponse cellulaire facilite la signalisation intracellulaire. Cependant, la mort cellulaire peut survenir si le niveau de ROS est suffisamment élevé (Hultqvist et al., 2009; Liu et al., 2018). Un système de défense antioxydant fiable est donc nécessaire pour répondre à l'accumulation de ROS (Bhattacharya, 2015). Le β-Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) et le glutathion (GSH), en tant qu'antioxydants majeurs, peuvent maintenir l'oxygène et l'oxydo-réduction dans les cellules (Patlevič et al., 2016). Le NADPH est généré par la voie métabolique du pentose phosphate et d'autres sources et peut agir comme substrat partagé pour la régénération du GSH ou la production de ROS (Patlevič et al., 2016). La glutathion-S-transférase et la glucose-6-phosphate déshydrogénase sont des enzymes antioxydantes naturelles qui éliminent les métabolites oxydatifs pour protéger les globules rouges (Rada et Leto, 2008).

Dans le corps humain, le contrôle des natures enzymatiques et non enzymatiques permet aux ROS d'être inactivés grâce au mécanisme des antioxydants dans un système biologique. Les composés enzymatiques, tels que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase, sont considérés comme des antioxydants endogènes, tandis que les composés non enzymatiques sont la bilirubine et l'albumine (Sharopov et al., 2020). Lorsque l'organisme est exposé à une forte concentration de ROS, des antioxydants exogènes, tels que des aliments, des compléments nutritionnels ou des produits pharmaceutiques, sont fournis pour protéger les organismes et ralentir le stress oxydatif (Bhattacharya, 2015). Les composés phénoliques, les caroténoïdes, les vitamines C et certains minéraux tels que le sélénium et le zinc figurent parmi les antioxydants exogènes les plus importants (Ben Farhat et al., 2009).

5.3 Mécanismes de la défense antioxydante

La défense antioxydante peut être enzymatique ou non enzymatique, ainsi qu'un système de réparation.

Dans le système enzymatique primaire, les enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx) et la DT-diaphorase sont développées par les organismes aérobies (Kıran et al., 2023). La réaction de dismutation de l'O_2 en H_2O_2 a été réalisée par la SOD qui a produit de l'H_2O et de l'O_2 lors des réactions catalysées par la catalase ou par la GPx. Grâce au puissant système d'enzymes de détoxification, la SOD joue un rôle vital dans la cellule (Zengin et al., 2016). La SOD, en tant que métalloenzyme, a besoin d'un métal comme cofacteur pour être activée. Ainsi, les différentes formes d'enzymes dépendent du type d'ion métallique. Le fer ou le manganèse sont utilisés dans la CAT comme cofacteur et peuvent catalyser le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour dégrader ou réduire l'eau et les produits de l'oxygène moléculaire (Liu et al., 2018). Cela permet d'achever le processus de détoxification entamé par la SOD. La CAT se trouve dans les peroxysomes et décompose de nombreuses molécules d'H_2O_2 en une seconde, et élimine l'H_2O_2 lorsque les acides gras sont oxydés (Sharopov et al., 2020). La GPx, en tant qu'enzyme intracellulaire, décompose l'H_2O_2 dans l'eau et les peroxydes lipidiques en fonction de leurs alcools dans les mitochondries et parfois dans le cytosol (Yorbik et al., 2002). Le sélénium est l'élément crucial pour activer la GPx. Le corps humain compte au moins huit enzymes GPx, GPx1-GPx8, dont la GPx1 est la sélénoperoxydase la plus abondante dans toutes les cellules (Kıran et al., 2023).

La fonction du système non enzymatique est de piéger les radicaux libres et d'éviter la réaction d'initiation des radicaux. Les radicaux sont neutralisés ou capturés lorsque les électrons sont donnés. Le rôle des antioxydants tels que la vitamine E, la vitamine C, les carotènes, la ferritine, la céruloplasmine, le sélénium, le glutathion réduit, le manganèse, l'ubiquinone, le zinc, les flavonoïdes, la coenzyme Q, la mélatonine, la bilirubine, la taurine et la cystéine est de prévenir ou de ralentir les dommages causés aux cellules par les radicaux libres (Cecerska-Heryć et al., 2021; Liu et al., 2018). Il est intéressant de noter que certains produits naturels contenant des flavonoïdes ont des interactions directes avec les ROS pour générer des composés complexes stables ou moins réactifs, tandis que d'autres flavonoïdes peuvent agir comme co-substrat dans le processus de catalyse de certaines enzymes (Akram et al., 2021).

La GPx, la glutathion réductase (GR) et la méthionine sulfoxyde réductase (MSR) sont également des enzymes qui jouent un rôle d'intermédiaires dans le processus de réparation du stress oxydatif.

Ainsi, les dommages causés par une exposition aux rayons UV entraînent la formation de plusieurs adduits à l'ADN, notamment des dimères de thymine et des 6,4-photoproduits (Shahmoradi-Ghahe et al., 2021). Une fois le dommage reconnu, un court segment d'ADN simple brin est retiré, composé de la lésion, tandis que l'ADN simple brin qui n'a pas été endommagé est conservé (Álvarez-González et al., 2023). Ensuite, l'ADN utilise le brin intact comme modèle pour la synthèse d'une courte séquence complémentaire. L'étape finale de la ligature est la réparation par excision des nucléotides, puis un ADN double brin est formé par l'ADN ligase. Cela est également très utile dans le cas de maladies liées aux anomalies chromosomiques et génétiques (Shahmoradi-Ghahe et al., 2021). Un brin non endommagé sera utilisé comme modèle pour la restauration, et l'enzyme ADN ligase joint les brins (Akram et al., 2021). Le mécanisme de réparation lui-même comprend l'utilisation de protéines dans la synthèse de l'ADN.

5.4 Activité antioxydante des HEs

Dans le cadre d'activités métaboliques normales, la cellule peut générer des molécules hautement réactives et toxiques telles que ROS qui peuvent endommager l'ADN, les protéines, les lipides et les enzymes (Hou et al., 2022). Il convient donc de prêter attention à l'utilisation d'antioxydants pour inhiber la peroxydation des lipides et protéger des dommages causés par les radicaux libres. Les antioxydants synthétiques tels que BHA et BHT ont été utilisés comme antioxydants, mais leur utilisation est aujourd'hui restreinte en raison de leur cancérogénicité et d'autres propriétés toxiques (Xu et al., 2021).

Par conséquent, l'intérêt pour les antioxydants naturels comme les HEs a considérablement augmenté (Abdellatif et al., 2022; Al-Mijalli et al., 2023; Anthony et al., 2012). La propriété antioxydante des HEs est d'un grand intérêt dans le domaine des produits pharmaceutiques, des cosmétiques, des aliments, etc. Les capacités d'élimination des radicaux libres de l'HE des fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* ont été déterminées en analysant les activités d'antioxydants connus, tels que le trolox et l'acide ascorbique, par le dosage du radical 2,2′ -diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Ahmed et al., 2019). La capacité de réduction de la formation des radicaux DPPH a été déterminée par la diminution de son absorbance à 517 nm induite par les antioxydants (Ahmed et al., 2019). L'effet des antioxydants sur le piégeage du radical DPPH est dû à leur capacité à donner de l'hydrogène. Le DPPH est un radical libre stable qui accepte un électron ou un radical hydrogène pour devenir une molécule diamagnétique stable (Manssouri et al., 2020).

Des études antérieures ont montré que l'activité antioxydante des HEs diffère en raison de la présence et la concentration de composants antioxydants, qui varient à leur tour en fonction des méthodes d'extraction et des solvants (Baptista et al., 2015; Hou et al., 2022). La forte capacité antioxydante des HEs est principalement due à leurs composés phénoliques et à certains autres métabolites secondaires, qui sont structurellement similaires aux phénols végétaux bien connus ayant un potentiel antioxydant (Bhavaniramya et al., 2019a; Nieto et al., 2018). En outre, les chercheurs ont détecté des monoterpénoïdes d'oxygène antioxydants tels que des aldéhydes, des cétones et des esters dans les HEs dérivées de plantes. Les monoterpènes et les composés phénoliques sont les principaux composés ayant la plus forte activité antioxydante (Tafrihi et al., 2021). Parmi eux, le thymol et le carvacrol sont les principaux composants des HEs extraites de plantes médicinales, qui ont des capacités élevées d'oxydoréduction et de piégeage des radicaux libres (Yanishlieva et al., 1999). Par ailleurs, certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes sont également responsables des propriétés antioxydantes des HEs (Zengin et Baysal, 2014). Les HEs, en tant qu'antioxydants naturels, empêchent l'oxydation des lipides dans les systèmes alimentaires en bloquant divers mécanismes tels que l'initiation de la chaîne, le piégeage des radicaux libres, les agents réducteurs, la fin des peroxydes, la prévention de l'extraction continue de l'hydrogène et l'inhibition de la formation de l'oxygène singulet et de la liaison du catalyseur aux ions métalliques de transition (Bhavaniramya et al., 2019a; Hou et al., 2022). En augmentant les enzymes antioxydantes sériques et hépatiques, les cellules peuvent être protégées des radicaux libres extracellulaires nocifs. En outre, le potentiel antioxydant des HEs est également étroitement lié au cycle de croissance des plantes, ce qui affecte la teneur et la qualité des composants des huiles volatiles tels que les composés phénoliques (Nithiyanantham et al., 2019).

Comme indiqué ci-dessus, les HEs sont une source inestimable d'antioxydants naturels qui pourraient remplacer les antioxydants synthétisés chimiquement. Comme les HEs ont la puissante capacité de piéger les radicaux libres, elles peuvent jouer un rôle dans la prévention et le traitement de certaines maladies, comme le diabète, le cancer, les maladies neurodégénératives, les maladies cardiovasculaires et les troubles auto-immuns.

6. Pouvoir antidiabétique des HEs

6.1 Généralités

Le diabète est un problème majeur de santé publique qui touche plus de 400 millions de personnes dans le monde (Khursheed et al., 2019). Ce trouble métabolique entraîne progressivement des complications chroniques microvasculaires, macrovasculaires et neuropathiques qui mettent la vie en danger. Le diabète est causé soit par un déficit de sécrétion d'insuline, soit par une lésion de la cellule β du pancréas, soit par une résistance à l'insuline liée à la non-utilisation de l'insuline (Eizirik et al., 2020; Rahman et al., 2022). La tendance à la sédentarité pourrait être la principale raison de l'augmentation continue du nombre de patients diabétiques dans le monde, qui devrait atteindre 366 millions en 2030 dans la population âgée (>65 ans) (Wild et al., 2004).

6.2 Classification du diabète

6.2.1 Diabète de type I

Le diabète de type I (DT1) est causé par un dysfonctionnement et une apoptose des cellules β à médiation auto-immune, entraînant la nécessité d'une insulinothérapie exogène tout au long de la vie (Padhi et al., 2020). La maladie est la conséquence d'un dialogue complexe entre les macrophages envahissants ou résidents et les cellules T, qui libèrent des chimiokines et des cytokines dans le microenvironnement des îlots de Langerhans et délivrent des signaux pro-apoptotiques, et les cellules β par le biais de signaux générés physiologiquement (par exemple, les produits de dégradation de l'insuline ou d'autres composants des granules du noyau dense des cellules β) ou par des cellules β stressées, blessées ou mourantes qui attirent et activent les cellules immunitaires vers les îlots de Langerhans (Eizirik et al., 2020; Gonzalez-Duque et al., 2018). Ce dialogue est déterminé par le patrimoine génétique et l'âge de l'hôte, ainsi que par des facteurs environnementaux tels que les infections virales et le régime alimentaire. La diaphonie pathogène entre les cellules immunitaires et les cellules β peut déclencher une inflammation locale (insulite) et un dysfonctionnement progressif des cellules β et leur mort, principalement par apoptose, ou peut être arrêtée par des mécanismes locaux qui atténuent la réponse immunitaire et rétablissent la physiologie (DiMeglio et al., 2018).

La prévalence du DT1 chez les enfants double tous les 25 ans et entraîne actuellement une perte moyenne de 11 à 12 ans d'espérance de vie (Thomaidou et al., 2018).

6.2.2 Diabète de type II

Dans le diabète de type II (DT2), la carence relative en insuline due au dysfonctionnement des cellules β est un facteur clé pour le développement de la maladie qui coexiste souvent avec une résistance à l'insuline (Eizirik et al., 2020). Bien que le DT2 représente la majeure partie (80 %) de tous les cas de diabète sucré, il reste une forme de maladie mal définie et un diagnostic d'exclusion: il n'existe pas de critères diagnostiques spécifiques pour le DT2. Des approches de regroupement utilisant l'âge au moment du diagnostic, l'indice de masse corporelle (IMC), l'hémoglobine glyquée (HbA1), les estimations du modèle d'évaluation de l'homéostasie de la résistance à l'insuline (HOMA) de la fonction des cellules β et de la résistance à l'insuline, ainsi que les auto-anticorps de la décarboxylase de l'acide glutamique ont permis de sous-typer les patients en formes modérées ou sévères de DT2, avec une prédominance de la résistance à l'insuline ou de l'insulinopénie (Ahlqvist et al., 2018). Un sous-type peut évoluer vers un autre au fil du temps. L'obésité, l'alimentation "occidentale" riche en énergie, l'âge avancé et la sédentarité sont les principaux facteurs de risque du DT2, qui ont multiplié par quatre le nombre de cas au cours des quarante dernières années. Ces facteurs de risque peuvent précipiter à la fois la défaillance des cellules β et la résistance à l'insuline (Zaharia et al., 2019). Bien que les taux de complications chroniques se soient améliorés au fil du temps, le DT2 reste associé à une morbidité /mortalité considérables. La durée de vie est réduite de 6 ans en moyenne, bien que la perte d'espérance de vie atteigne 12 ans chez les personnes qui développent un DT2 à un plus jeune âge (Zheng et al., 2018).

6.3 Physiopathologie du DT2

La physiopathologie du DT2 implique un ou plusieurs mécanismes de "ominous octet" représenté dans la figure 7 et décrit ci-dessous (DeFronzo, 2009; Padhi et al., 2020) :

i) Diminution de la sécrétion d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans ;

ii) Augmentation de la sécrétion de glucagon par les cellules α des îlots de Langerhans ;

iii) Augmentation de la production de glucose dans le foie ;

iv) Dysfonctionnement des neurotransmetteurs et résistance à l'insuline dans le cerveau ;

v) Augmentation de la lipolyse ;

vi) Augmentation de la réabsorption du glucose par les reins ;

vii) Réduction de l'effet de l'incrétine dans l'intestin grêle ;

viii) Altération ou diminution de l'absorption du glucose par les tissus périphériques tels que les muscles squelettiques, le foie et le tissu adipeux.

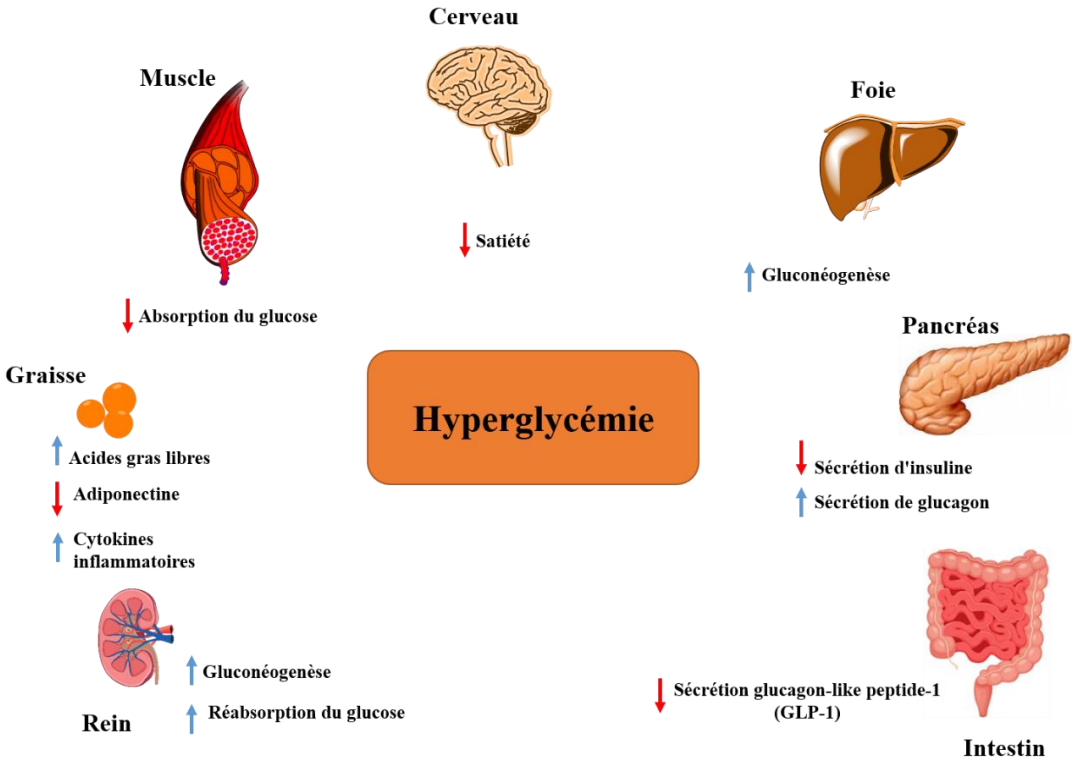


Figure 7. Physiopathologie du diabète de type II (adapté par El Hachlafi Naoufal).

6.4 Traitements actuels

Les principales classes conventionnelles de médicaments pour le traitement de l'hyperglycémie comprennent les sulfonylurées (augmentent la libération d'insuline par les îlots pancréatiques) ; les biguanides (réduisent la production hépatique de glucose) ; les agonistes des récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysomes-γ (PPARγ) (stimulent l'action de l'insuline) ; les inhibiteurs de l'α-glucosidase (interfèrent avec l'absorption du glucose dans l'intestin) (Eizirik et al., 2020; Rahman et al., 2022). Ces classes de médicaments sont administrées en monothérapie ou en association avec d'autres hypoglycémiants (Seino et al., 2017). L'hypoglycémie sévère, la prise de poids, une efficacité thérapeutique moindre causée par un régime posologique inapproprié ou inefficace, une faible puissance et des effets secondaires altérés en raison du métabolisme du médicament et du manque de spécificité de la cible, des problèmes de solubilité et de perméabilité sont les principaux inconvénients associés à l'utilisation des médicaments conventionnels susmentionnés (Chaudhury et al., 2017). Malgré l'avènement d'agents antihyperglycémiques prometteurs, les principaux défis d'un traitement efficace du diabète comprennent l'optimisation des thérapies existantes afin de garantir des concentrations de glucose optimales et équilibrées, ainsi que la réduction des complications à long terme liées au diabète.

6.5 Activité antidiabétique des HEs

Des études scientifiques ont prouvé l'effet antidiabétique des HEs provenant de nombreuses plantes médicinales en utilisant des modèles in vitro et in vivo. L'effet antidiabétique s'est avéré lié à l'inhibition des enzymes impliquées dans le métabolisme intestinal des hydrates de carbone et à la réduction du taux de glucose dans le sang (Lari et al., 2020). Les HEs sont une source riche de plusieurs composés bioactifs qui se sont révélés efficaces dans la gestion du diabète et de ses manifestations lors d'essais précliniques et cliniques (Jugreet et al., 2020). Plusieurs composés sont apparus comme des médicaments potentiels à développer en tant qu'agents antidiabétiques avec une activité puissante et un profil de sécurité plus favorable (Gandhi et al., 2023).

La dégradation des hydrocarbures dans l'intestin joue un rôle déterminant dans l'augmentation du glucose dans le sang. Cette dégradation est sous le contrôle d'enzymes impliquées dans la digestion intestinale telles que l'α-amylase, l'α-glucosidase et la β-glucosidase (Badalamenti et al., 2020; Shang et al., 2021). L'inhibition de ces enzymes est une stratégie thérapeutique importante pour réduire la glycémie et contribuer à la gestion du diabète de type 2.

En effet, plusieurs études ont démontré que les HEs et leurs composés bioactifs présentent d'importants effets antidiabétiques *in vitro* via l'inhibition de l'α-amylase, de l'α-glucosidase et de la β-glucosidase. Bouyahya et al. (2020) ont testé l'effet inhibiteur des huiles essentielles de *Mentha viridis* sur l'activité enzymatique de l'α-amylase et de l'α-glucosidase. L'HE a montré une puissante inhibition des deux enzymes avec des valeurs IC_{50} de 101,72 ± 1,86 µg/mL et 86,93 ± 2,43 µg/mL, respectivement. Une autre étude, l'effet antidiabétique *in vitro* des HEs de *Centaurium erythraea* recueillies à trois stades phénologiques. Les HEs de *C. erythraea* ont inhibé de manière efficace l'α-amylase et l'α-glycosidase. Aux stades post-floraux, l'HE de *C. erythraea* ont montré une inhibition importante de l'α-amylase et de l'α-glycosidase (Bouyahya et al., 2019b). Les auteurs ont attribué ces effets aux monoterpènes oxygénés présents dans ces HEs, notamment le carvacrol, le menthol et le tricosane (Bouyahya et al., 2019b).

L'activité antidiabétique in vivo des HEs a été attribuée à leur capacité à diminuer la concentration de glucose dans le sang, à augmenter la sécrétion d'insuline, à protéger les cellules β-pancréatiques et à stimuler la biosynthèse du glycogène (Ezeorba et al., 2022; Leherbauer and Stappen, 2020; Stevens and Allred, 2022). Des études antérieures ont montré que les HEs améliorent la glycémie et l'insuline à jeun, ainsi que l'anatomie et la fonction des cellules rénales et hépatiques (Martiz et

al., 2022; Stevens and Allred, 2022). Une amélioration de la fonction enzymatique, à la fois des enzymes directement impliquées dans le métabolisme du glucose et des enzymes impliquées dans l'excrétion, a également été notée de manière constante (Stevens and Allred, 2022). Des études ont également montré que les HEs ont permis d'améliorer la glycémie à jeun, d'accroître la sensibilité à l'insuline, de réduire l'appétit et de réguler à la hausse et à la baisse une myriade de protéines associées au métabolisme du glucose (Osaili et al., 2023; Sivasothy et al., 2023).

Les recherches menées à ce jour suggèrent que les HEs peuvent avoir un effet thérapeutique en modulant le métabolisme du glucose par de multiples voies. D'autres études *in vitro* et *in vivo* sont nécessaires (en particulier des essais cliniques chez l'homme) pour élucider complètement l'activité et les mécanismes de l'effet antidiabétique des HEs.

II. Présentation des espèces étudiées

II.1 Description de la famille des Lamiacées

La famille des lamiacées (anciennement Labiées), souvent appelée famille de la menthe est une famille cosmopolite de plantes à fleurs d'une grande importance commerciale qui comprend environ 250 genres et 7 000 espèces. Les genres les plus importants et les plus connus comprennent, *Salvia*, *Thymus, Scutellaria*, *Stachys, Mentha, Nepeta* et *Lavandula*. Un grand nombre d'espèces de lamiacées vivent dans différents écosystèmes et présentent une grande diversité avec une distribution cosmopolite.

Ces espèces sont généralement reconnues par une combinaison de caractéristiques botaniques. En effet, les tiges sont généralement à quatre angles. Les feuilles sont généralement simples et toujours opposées (Cantino, 1992; Harley et al., 2004). Les fleurs sont hermaphrodites ou mâles-stériles et forment des verticilles souvent disposés en épis, têtes, racèmes ou cymes. Les calices sont généralement à cinq lobes et à deux lèvres. Les corolles sont sympétales et à deux lèvres ; rarement, elles sont à une lèvre ou plus ou moins actinomorphes. Les étamines sont généralement au nombre de quatre, rarement réduites à deux ; la paire supérieure est plus courte que la paire inférieure. L'ovaire est supérieur, doublement carpellé mais paraissant également quadrilobé à maturité (Harley et al., 2004). Le fruit consiste en quatre noix sèches avec une seule graine (Azzazy, 2016). Il s'agit d'arbustes ou d'herbes qui produisent et libèrent une odeur aromatique (Harley et al., 2004).

Les plantes de la famille des lamiacées riches en HEs ont une grande valeur pour la médecine naturelle, l'alimentation, la cosmétique, les arômes, les parfums, les pesticides et les industries pharmaceutiques. En raison de leur large éventail d'applications, les plantes de la famille des lamiacées sont largement cultivées et sont donc considérées comme une source indispensable d'aliments fonctionnels.

1. Genre *Lavandula*

Le genre *Lavandula* comprend plus de 30 espèces et 70 taxons intraspécifiques et hybrides, qui peuvent être classés en trois sous-genres (*Fabricia*, *Sabaudia* et *Lavandula*) et huit sections. Les principales espèces cultivées sont la lavande fine (*L. angustifolia*), la lavande aspic (*L. latifolia*), la lavande papillon (*L. stoechas*), la lavande laineuse (*L. lanata*) et le lavandin (*L. intermedia*, un hybride stérile de *L. angustifolia* et *L. latifolia*) (Aprotosoaie et al., 2017a; Benabdelkader et al., 2011). Les lavandes sont originaires de la région méditerranéenne et sont largement distribuées et cultivées en Europe, aux îles Canaries, en Afrique du Nord, en Asie du Sud-Ouest, dans la péninsule arabique, en Inde, en Amérique du Nord et en Amérique du Sud (Aprotosoaie et al., 2017a; Salehi et al., 2018).

Grâce à leur teneur en HEs, les espèces de *Lavandula* sont l'une des plantes aromatiques et médicinales les plus utiles, avec une grande valeur économique pour les industries pharmaceutiques, alimentaires, les cosmétiques, la parfumerie et l'aromathérapie (Guitton et al., 2018). Le parfum agréable de ces plantes est principalement attribué à la présence de monoterpénoïdes qui sont synthétisés et accumulés dans les parties aériennes, principalement dans les fleurs (Hassanpouraghdam et al., 2011).

1.1 *Lavandula stoechas* L.

1.1.1 Taxonomie et description botanique

L. stoechas est une plante aromatique appartenant à la famille des lamiacées, qui pousse naturellement au Maroc et connue sous le nom vernaculaire "Lhalhal" (Şahinler et al., 2022).

Règne : Plantae
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae
Sous-famille : Nepetoideae
Genre : *Lavandula*
Espèce : *Lavandula stoechas* Linn., 1753

Les sépales enveloppent la fleur comme un tube et se terminent par quatre petites dents pointues à l'extrémité. Les fleurs sont légèrement plus foncées que celles des autres espèces, d'un violet noirâtre. Les fleurs sont rassemblées en forme cylindrique à l'extrémité des branches (Ghalbane et al., 2022). Il y a quatre étamines entre les pétales, dans des couleurs allant du bleu au violet. La glande à nectar est située sous le tube de la corolle. Les graines mesurent 2 mm de haut et 1 mm de large. Leur forme est ovale allongée et leur couleur est brun foncé brillant (Bachiri et al., 2018).



Figure 8. Photographie originale de la partie aérienne de *Lavandula stoechas* (34° 15′ 35″ N, 5° 55′ 45″ O). (Photo prise par El Hachlafi Naoufal).

1.1.2 Répartition géographique

L. stoechas est répandu sur trois continents, à savoir Afrique, Europe et Asie. Elle se répand principalement dans le Sud de l'Europe et en Afrique du Nord, sur le pourtour Méditerranéen, en particulier dans les pays Méditerranéens et Balkaniques. C'est une plante qui pousse à l'état sauvage dans des régions allant des îles Canaries à la côte Méditerranéenne et à l'Inde. Elle est largement cultivée en France, en Bulgarie, en Italie, en Grèce, en Angleterre, aux États-Unis et dans les pays d'Afrique du Nord. Au Maroc, cette plante pousse généralement sur des sols calcaires, en particulier dans le Nord du Maroc, dans le Moyen et le Haut Atlas et dans les montagnes du Rif.

L. stoechas est également distribuée dans les régions du Nord, du Nord-Est et du Cap Bon de la Tunisie, entre 400 et 1000 m (Aprotosoaie et al., 2017; Ez zoubi et al., 2020).

1.1.3 Usage traditionnel

L. stoechas est une espèce bien connue, utilisée dans toute la région méditerranéenne pour ses valeurs médicinales telles que ses propriétés céphaliques et carminatives. Elle est recommandée pour traiter les infections pulmonaires et les maladies inflammatoires (Zahid et al., 2021), ainsi que comme antispasmodique dans les douleurs coliques et pour diverses maladies du système nerveux central, notamment l'épilepsie et la migraine. Elle a également des effets bénéfiques sur les plaies, l'eczéma, les infections urinaires, et possède des propriétés analgésiques, sédatives et antiseptiques (Zahid et al., 2021). Elle est aussi utilisée comme herbe culinaire pour préparer un type particulier de couscous, pour aromatiser certains plats traditionnels, et pour préparer du thé et de la soupe (Héral et al., 2021). Dans les pays du Maghreb, comme le Maroc, l'Algérie et la Tunisie, cette plante est utilisée dans la pharmacopée traditionnelle pour traiter les maux de tête, la dépression, le diabète et les maladies inflammatoires et rhumatismales (Benali et al., 2023; Ez zoubi et al., 2020; Bouyahya et al., 2017). Dans la tradition palestinienne, la décoction de la partie aérienne de la lavande est utilisée pour traiter la migraine et l'épilepsie (Şahinler et al., 2022). L'infusion de fleurs est utilisée en phytothérapie turque comme expectorant, antispasmodique, carminatif, régulateur menstruel, stimulant, désobstruant, résolutif et cicatrisant (Şahinler et al., 2022).

2. Genre *Mentha*

Le genre *Mentha* appartient à la famille des Lamiaceae, avec des plantes aux feuilles simples et caractéristiques, à l'odeur agréable et se répandant dans divers environnements à travers le monde (Šarić-Kundalić et al., 2009). La taxonomie de *Mentha* est très complexe et comprend environ 40 espèces et 15 hybrides, avec des centaines de sous-espèces et de cultivars (Salehi et al., 2018). 11 hybrides naturels ont été produits à partir des espèces *M. arvensis* L., *M. aquatica* L., *M. spicata* L., *M. longifolia* L. et *M. suaveolens*; la plupart des hybrides sont stériles mais peuvent se propager grâce à leur rhizome très envahissant (Spencer et al., 1993). Les plantes de ce genre sont vivaces et sont utilisées pour la production des HEs, principalement aux États-Unis, en Afrique du Nord, en Inde, et en Chine (Lawrence, 2006). Les matières végétales fraîches et séchées des espèces de *Mentha* sont largement utilisées dans l'industrie comme éléments de confiserie, agents exhausteurs de goût, produits pharmaceutiques, cosmétiques, etc (Shaikh et al., 2014; Tafrihi et al., 2021).

2.1 *Mentha suaveolens* Ehrh

2.1.1 Taxonomie et description botanique

Mentha suaveolens Ehrh est une plante herbacée vivace de la famille des lamiacées et appartient à l'ordre des Lamiales (Lawrence, 2006).

Règne : Plantae
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae
Genre : *Mentha*
Espèce : *Mentha suaveolens* Ehrh., 1792

Elle est originaire d'Afrique, d'Asie tempérée et d'Europe. Elle atteint une hauteur de 40 à 60 cm. La tige de *M. suaveolens* a une odeur et un goût aromatiques, elle est caractérisée par sa nature herbacée, sa forme quadrangulaire et sa structure solide. Sa surface est tomenteuse et sa couleur peut varier du vert au vert violacé. La tige suit un schéma de ramification monopodiale avec des entrenœuds courts (El-Kashoury et al., 2013). Les feuilles sont de forme lancéolée ou ovale, avec des bords dentelés (El-Kashoury et al., 2013). Elles sont généralement gris-vert et ont une texture douce et laineuse due à la présence de poils fins à la surface des feuilles (figure 9). Lorsque les feuilles sont écrasées ou meurtries, elles dégagent un arôme agréable rappelant celui de la pomme, ce qui donne à la plante son nom commun de "menthe à la pomme". Les fleurs sont petites et disposées en verticilles ou en épis au sommet des tiges. Elles sont généralement de couleur violet pâle à rose et attirent les pollinisateurs tels que les abeilles et les papillons (Ayaz et al., 2020).



Figure 9. Photographie originale de la partie aérienne de *Mentha suaveolens* (34° 15′ 35″ N, 5° 55′ 45″ O. Photo de El Hachlafi Naoufal).

En termes d'habitat, cette plante se trouve souvent dans des habitats tels que les cours d'eau, les tourbières et autres lieux humides, et dans d'autres zones humides avec des conditions de sol humide. Elle peut tolérer des inondations périodiques du sol et a une tolérance élevée pour un niveau phréatique (eaux souterraines) (Chaachouay et al., 2019; El Khomsi et al., 2022).

2.1.2 Usage traditionnel

M. suaveolens est largement utilisée dans la médicine traditionnelle. Depuis l'Antiquité, les cultures occidentales et orientales utilisent cette espèce comme plante médicinale et aromatique pour soigner de nombreuses maladies. Des études ethnobotaniques sur *M. suaveolens* ont révélé ses puissantes applications médicales dans plusieurs cas.

Au Maroc, les feuilles de *M. suaveolens* sont généralement consommées sous forme d'infusion ou de décoction. Dans certaines régions comme la province de Tarfaya, Beni Mellal-Khenifra, Rabat, le Haut Atlas et les régions du Nord-Est, cette espèce est souvent recommandée pour les maux de dents, les allergies, l'arythmie, la stérilité, les rhumes, le diabète, les maladies digestives et la prévention des symptômes et des effets secondaires de la chimiothérapie (Fadili et al., 2017; Idm'hand et al., 2020; Merrouni et al., 2021; Mohamed et al., 2022; Skalli et al., 2019). Par ailleurs, d'autres régions marocaines comme le parc national de Talassemtane, le Moyen Atlas et les plaines du Saiss, du Rif, de Kenitra et de Moulay-yaacoub, utilisent *M. suaveolens* pour la dyspepsie, la froideur corporelle, les affections respiratoires, la tuberculose, et comme antiseptique, carminatif, tonique, analgésique et antitoxique (Chaachouay et al., 2019; El Khomsi et al., 2022; El Yaagoubi et al., 2023; Orch et al., 2020; Redouan et al., 2022).

Il est intéressant de noter que cette espèce a été utilisée dans les pays européens pour soigner divers troubles. En Catalogne, la partie aérienne de *M. suaveolens* est considérée comme antidiarrhéique, antiparasitaire et salutaire pour les veaux, les poules et les chiens, respectivement, tandis que les parties occidentale et orientale de l'Espagne (Grenade et Arribes del Duero) utilisent cette plante comme anticatarrhale, antihelminthique et antiherpétique (Benítez et al., 2010; Bonet and Valles, 2007; Carrió and Vallès, 2012; González et al., 2010).

II.2 Description de la famille des Apiacées

La famille des Apiacées (Ombellifères) est une famille de plantes à fleurs, qui comprend plus de 3 000 espèces réparties en 400 à 450 genres.

Les plantes de cette famille se caractérisent par une forte odeur aromatique due à la présence des HEs (Sahebkar and Iranshahi, 2010 ; Sayed-Ahmad et al., 2017 ; Semeniuc et al., 2018)

La famille des Apiacées se compose de trois sous-familles, à savoir les Apioideae, les Saniculoideae et les Hydrocotyloideae, chacune étant divisée en tribus et en sous-tribus (Downie et al., 2000; Kljuykov et al., 2021; Uruşak and Kizilarslan, 2013). Les membres les plus courants de cette famille sont *Anethum graveolens* L. (aneth), *Ammi visnaga* (L.) Lam (herbe-aux-cure-dents), *Apium graveolens* L. (céleri), *Pimpinella anisum* L. (anis), *Carum carvi* L. (cumin), *Coriandrum sativum* L. (coriandre), et *Foeniculum vulgare* Mill. (fenouil), etc.. Il a été démontré que les plantes apiacées possèdent différentes propriétés biologiques, notamment des activités antimicrobiennes, antitumorales, hépatoprotectrices et antidiabétiques (Sahebkar et Iranshahi, 2010; Sayed-Ahmad et al., 2017; Semeniuc et al., 2018).

1. *Ammi visnaga* (L.) Lam

1.1 Taxonomie et description botanique

A. visnaga est une plante herbacée annuelle ou parfois bisannuelle qui peut atteindre une hauteur de 120 cm.

Règne : Plantae
Sous-règne : Viridaeplantae
Classe : Equisetopsida
Clade : Spermatophyta
Sous-classe : Magnoliidae
Ordre : Apiales
Famille : Apiaceae
Sous-famille : Apioideae
Genre : *Ammi*
Espèce : *Ammi visnaga* (L.) Lam., 1779

La racine est pivotante cylindrique, de couleur brun clair. La tige (jusqu'à 130 cm de long) est cylindrique, érigée, très ramifiée, à feuilles denses et glabres (Aourabi et al., 2018). Les feuilles sont pennées ou ovales avec des segments linéaires minces mesurant environ 1-3 cm de long. Elles sont vertes dans la partie supérieure et blanc grisâtre dans la partie inférieure. Les fleurs forment des ombelles blanches inflorescentes, mesurant 5 à 11 cm de diamètre chacune; les pédoncules floraux sont allongés et peuvent atteindre 22 cm de long (Hashim et al., 2014; Rahal, 2021). Avec de nombreuses bractées, le nombre de rayons peut être de 50, 100 ou 150 par ombelle ; chaque rayon est mince et long de 2 à 5 cm, inégalement étalé lorsqu'il est jeune. Au stade de la fructification, les rayons deviennent épais, rigides et rétrécis sur une base discoïde épaissie.

Ils sont entourés d'un involucre de longues bractées tripartites. Les fleurs ont une corolle blanche et un calice avec de minuscules sépales discrets (El-Mokasabi, 2014). Le feuillage a une odeur très caractéristique et les fleurs ont un parfum particulier. Les fruits sont des crémocarpes oblongs et ovoïdes, d'un vert brunâtre teinté de violet. Les ombelles prennent une couleur brun clair avec une odeur et un goût caractéristiques au stade de la fructification (El-Mokasabi, 2014) (figure 10).



Figure 10. Photographie originale de la partie aérienne d'*A. visnaga* (34° 15′ 35″ N, 5° 55′ 45″ O).

1.2 Répartition biogéographique

Adaptée au climat chaud de la Méditerranée, *A. visnaga* est une plante indigène d'Afrique du Nord, d'Asie occidentale et d'une grande partie de la Méditerranée européenne (Ruščić et Nikolić, 2011). En tant qu'espèce naturalisée, elle apparaît aussi en Amérique du Nord, en Argentine, au Chili, au Mexique, en Asie du Sud-Ouest et dans certaines îles de l'Atlantique (Gad et al., 2022). En outre, elle est cultivée en Amérique du Nord, au Mexique, en Argentine, au Chili, en Egypte, en République islamique d'Iran, et en Tunisie (Ahmed et al., 2022).

1.3 Utilisation traditionnelle

La décoction et la poudre des ombelles d'*A. visnaga* sont utilisées traditionnellement pour le traitement des coliques néphrétiques, des symptômes angineux légers et des crampes abdominales (Khalil et al., 2020). La plante est également employée comme traitement de soutien en cas d'obstruction légère des voies respiratoires dans l'asthme, et comme traitement postopératoire des conditions associées à la présence de calculs urinaires (Al-Snafi, 2013).

La plante et ses extraits sont également connus pour leur efficacité dans le traitement du vitiligo et du psoriasis, et sont utilisés comme agent lithotriptique. Elle est généralement utilisée pour dilater les vaisseaux bronchiques, urinaires et sanguins sans affecter la pression artérielle (Khalil et al., 2020). Elle est également employée comme diurétique et dans le traitement des vertiges, du diabète et des calculs rénaux (Miara et al., 2019). Une infusion des parties aériennes a également été utilisée pour traiter les maux de tête.

II.3 Etat de connaissance pour les plantes étudiées

Les HEs et les extraits de *L. stoechas* ont été largement étudiés et leurs effets biologiques ont montré un potentiel prometteur pour être utilisés dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires. *L. stoechas* possède plusieurs propriétés pharmacologiques, notamment antioxydante, antimicrobienne, antidiabétique, anti-inflammatoire, antispasmodique, anti-tumorale, protectrices du système immunitaire et insecticide (figure 11). Ces effets bénéfiques sont généralement liés à la présence de nombreux composés bioactifs dans *L. stoechas.*

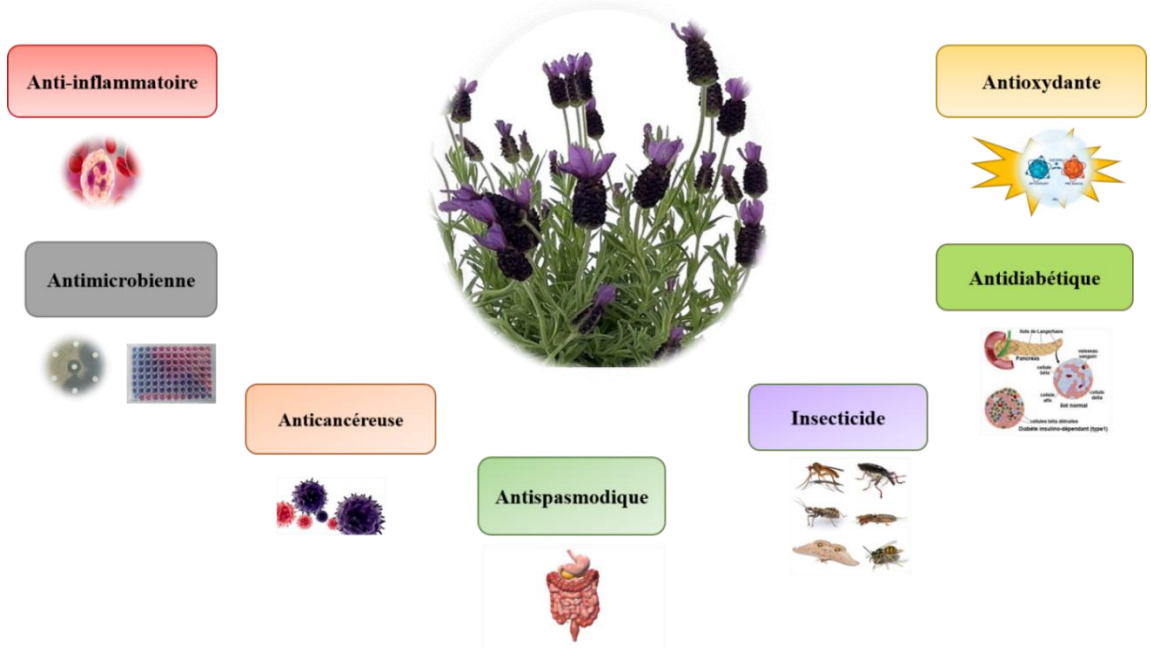


Figure 11. Propriétés pharmacologique des HEs et des extraits de *L. stoechas* (adapté par El Hachlafi Naoufal).

En outre, des études scientifiques ont montré que *M. suaveolens*, en particulier ses HEs, présentent plusieurs propriétés biologiques, notamment des effets anti-inflammatoires, antimicrobiens, cardioprotecteurs, analgésiques, antiviraux, antiparasitaires (figure 12). Ces effets sont principalement attribués au fait que *M. suaveolens* est composé de plusieurs composés bioactifs.

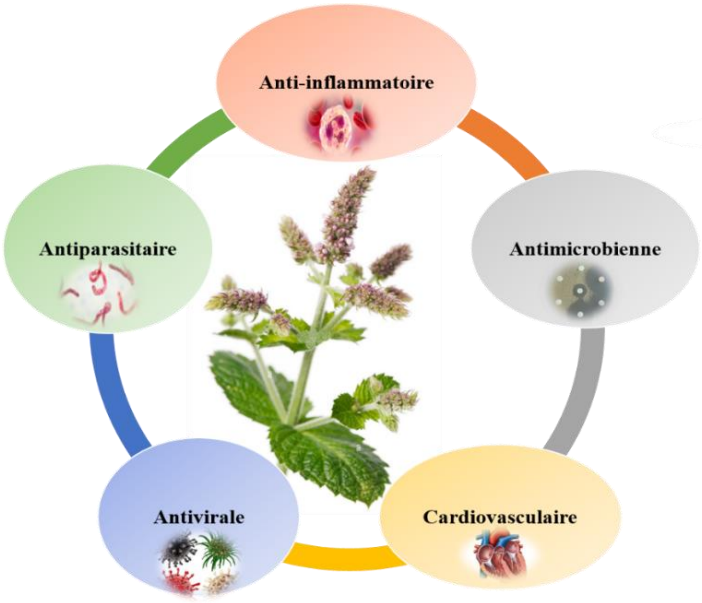


Figure 12. Principales propriétés biologiques des HEs et extraits de *M. suaveolens* (N. El Hachlafi).

Des études pharmacologiques ont montré que les HEs et les extraits d'*A. visnaga* obtenus à partir de différentes parties de la plante possèdent diverses activités biologiques, notamment des effets antibactériens, antifongiques, antiparasitaires, antidiabétiques, anti-inflammatoires, et cardioprotecteurs (figure 13). Ces propriétés sont attribuées aux divers composés bioactifs identifiés dans l'*A. visnaga*, notamment la khelline, la visnagine, le khellinol, le visammiol, le khellol, la khellinine, la khellinone, la visnaginone (figure 14).

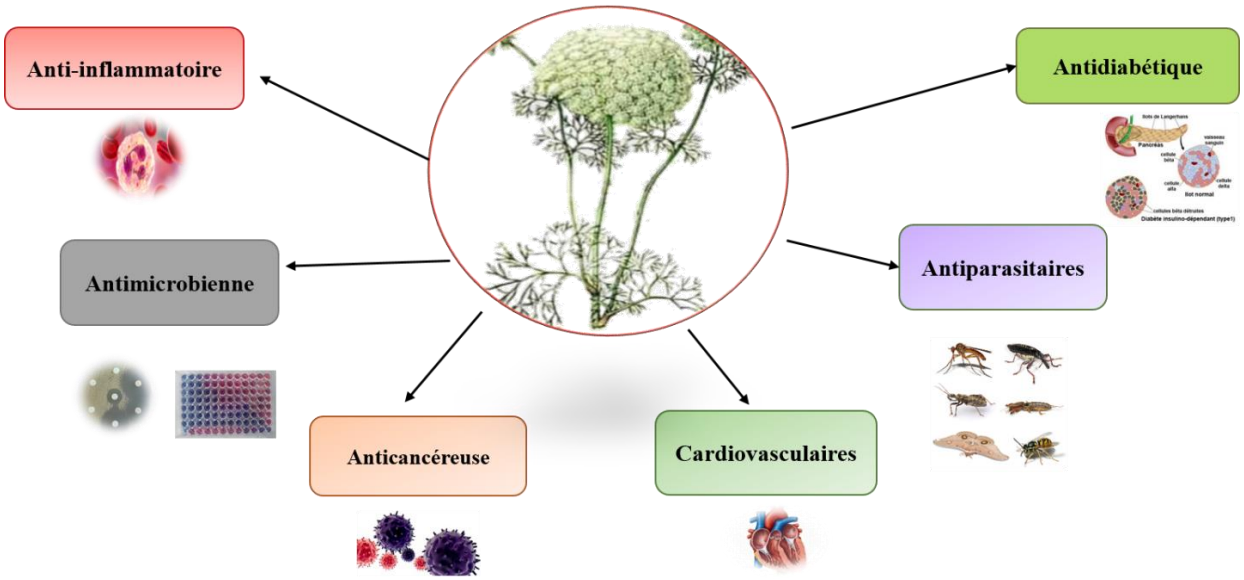


Figure 13. Activités pharmacologiques des HEs et des extraits d'*A. visnaga* (adapté par El Hachlafi Naoufal).

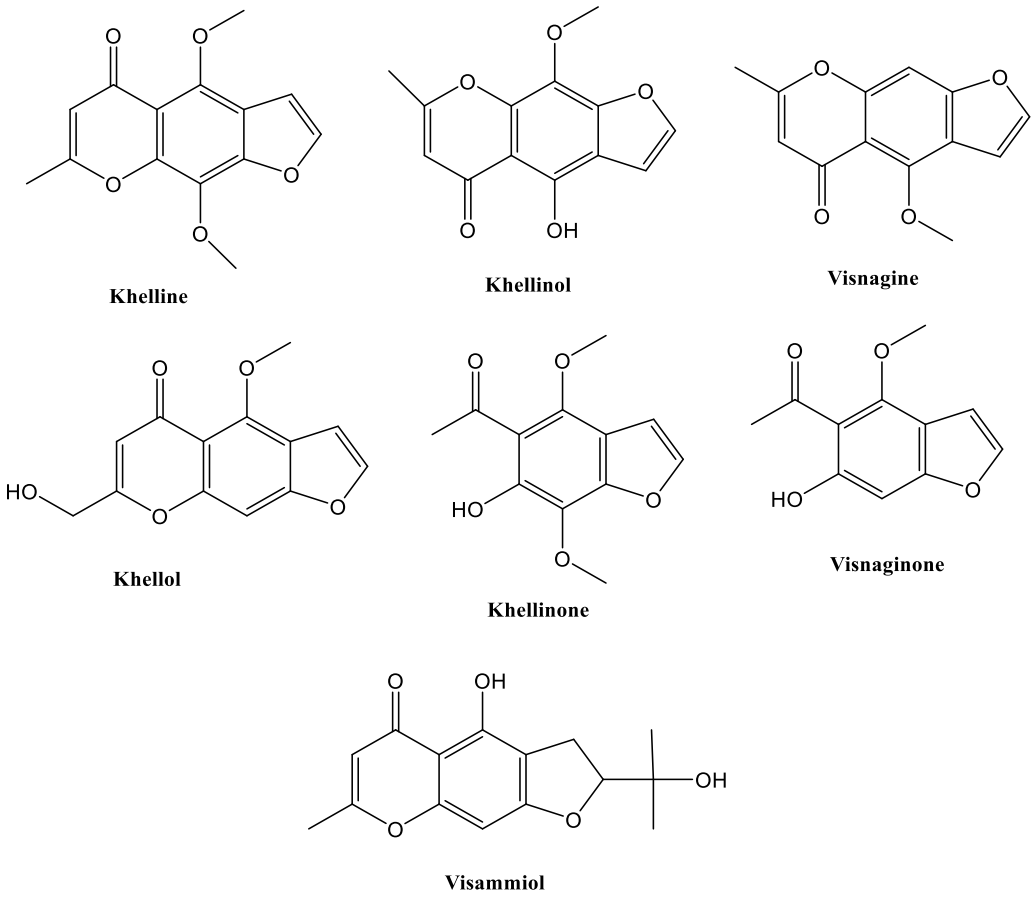


Figure 14. Principaux constituants chimique d'*A. visnaga* (adapté par El Hachlafi Naoufal).

Tableau 1 résumant l'état des connaissances actuelles concernant les activités biologiques et l'activité antioxydante des HEs de *L. stoechas, M. suaveolens* et *A. visnaga*.

Tableau 1. Activités biologiques et l'activité antioxydante des HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens* et *A. visnaga*.

	L. stoechas	**Références**	***M. suaveolens***	**Références**	***A. visnaga***	**Références**
Activité antibactérienne	Forte activité contre les bactéries pathogènes, (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Haemophilus influenzae* et *Pseudomonas aeruginosa*)	(Costa et al., 2012; Karaca et al., 2021),	Effet inhibiteur significatif de l'HE sur les bactéries pathogènes présentes dans les saucisses de dinde fraîches (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *K. pneumonia*)	(Ed-Dra et al., 2019)	Efficacité des extraits aqueux et hydroalcooliques contre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* et *Streptococcus sanguis*	(Semyari et al., 2011)
Activité antioxydante	Forte activité contre les radicaux ABTS et DPPH, ainsi qu'un important pouvoir réducteur des ions ferriques.	(Bouyahya et al., 2017)	Forte activité contre les radicaux ABTS et DPPH	(Al-Mijalli et al., 2022)	Activité de piégeage des radicaux libres avec une CI_{50} des extrais de butanol de 8,77 ± 0,2 µg/mL	(Bencheraiet et al., 2011)
Activité antifongique	Pouvoir antifongique contre les champignons filamenteux, (*Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum*) et les levures (*Candida albicans*	(Benabdelkader et al. 2011)	Activité antifongique significative contre *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*	(Chouhan et al., 2017)	Activité antifongique contre *Candida albicans* et *Candida tropicalis*	(El Hachlafi et al., 2023a)
Activité Antidiabétique	Effet protecteur contre le stress oxydatif causé par le diabète, en inhibant les enzymes la catalase (CAT) et de la superoxyde dismutase (SOD) dans les tissus hépatiques et rénaux de rats diabétiques	(Sebai et al., 2013)	Effet inhibiteur contre les enzymes α-amylase et α-glucosidase	(Al-Mijalli et al., 2022)	Effet hypoglycémique significatif in vivo (rats normaux et diabétiques à la streptozotocine)	(Khalil et al., 2020)

Activité anti-inflammatoire	Activité inhibitrice dans l'œdème de la patte induit par la carragénine	(Ezzoubi et al., 2020)	Effets antinociceptifs et anti-inflammatoires modestes dans le test de la plaque chauffante	(Mogosan et al., 2017)	Entraîne une diminution de l'expression de l'ARNm et de la libération du facteur de nécrose tumorale TNF-α, de l'interleukine-1bêta et de l'interféron γ (IFN- γ).	(Khalil et al., 2020)
Activité insecticide	Forte toxicité contre *Anopheles labranchiae* (dose létale (DL)50 = 112,51 mg/L), un vecteur de transmission du paludisme	(Lalami et al., 2016)	Forte toxicité contre les larves de *Tuta absoluta* (DL_{50}= 1,13 µL/mL) et les adultes de *Ceratitis capilata* (DL_{50}=2,3 µL/mL) après 24 h d'exposition	(Zerkani et al., 2021)	Forte toxicité contre les nymphes d'*Oncopeltus fasciatus* et les larves d'*Aedes aegypti*	(Alam et al., 2018)
Activité anticancéreuse	Efficacité des extraits chloroformiques contre les cellules cancéreuses épidermoïdes de souris	(Ayral, 1997)	Activité cytotoxique très forte sur les kératinocytes HaCaT	(Spagnoletti et al., 2016)	Activité anticancéreuse intéressante contre les cellules HT-29 (cancer colorectal), MCF-7 (cancer du sein), HEp-2 (cancer du larynx) et MKN-45 (cancer gastrique)	(Khalil et al., 2020)
Activité antispasmodique	Effets antispasmodiques sans noter d'effets indésirables sur les tissus du jéjunum	(Gilani et al., 2000)	Non reporté		Effet relaxant sur la contractilité de l'intestin grêle du lapin	(Alam et al., 2018)
Activité cardiovasculaire	Effet protecteur contre l'infarctus du myocarde induit par l'isoprénaline chez les rats.	(Siddiqui et al., 2023)	Effet dépresseur sur le système cardiocirculatoire lorsque les extraits sont administrés par voie intraveineuse	(Bello et al., 2001)	Effet relaxant sur les muscles lisses, y compris ceux des artères coronaires	(Khalil et al., 2020)

Partie II : Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

1. Récolte des plantes étudiées

Les plantes médicinales ayant fait l'objet de notre étude ont été choisies sur la base des enquêtes ethnobotaniques menées par notre équipe de recherche dans la région Rabat-Salé-Kénitra pendant les années 2019, 2020, et 2021 ; ainsi que d'une recherche bibliographique approfondie.

Les parties aériennes (feuilles, tiges, fleurs) de *Mentha suaveolens* et *Ammi visnaga* ont été récoltées de la région de Sidi Slimane en Juin 2020. Cependant la récolte des parties aériennes *de Lavandula stoechas* a été effectuée entre le mois Avril et Mai 2021 dans la province Moulay Bouslham. Le matériel végétal des trois plantes étudiées est recueilli pendant le stade de floraison, où les principes actifs se retrouvent à leur teneur maximale. Le tableau 2 présente les plantes étudiées, leurs familles botaniques, leur partie utilisée, la zones et période de leur récolte, ainsi que leur stade de développement.

Tableau 2. Plantes médicinales étudiées.

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Famille botanique	Partie utilisée	Zone de récolte	Coordonnées géographiques	Période de récolte	Stade de maturité
Mentha suaveolens Ehrh.	Marssita	Lamiacées	Aérienne	Sidi Slimane	34° 15′ 35″ N, 5° 55′ 45″ O	Juin 2020	Floraison
Lavandula stoechas L.	Lkhzama	Lamiacées	Aérienne	Sidi Slimane	34° 15′ 35″ N, 5° 55′ 45″ O	Avril-Mai 2021	Floraison
Ammi visnaga (L). Lam	Bechnikha	Apiacées	Aérienne	Moulay Bouslham	34° 52′ 43″N, 6° 17′ 36″ O	Juin 2020	Floraison

Les plantes étudiées ont été identifiées par un botaniste : Dr. Abderrahim Chebat du Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc et les échantillons ont été déposées dans l'herbier du laboratoire de Biotechnologie Microbienne & Molécules Bioactives (LBM_2B) sous les spécimens suivant (BLMUP 350-352).

2. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles des plantes étudiées ont été obtenues par hydro-distillation à l'aide d'un dispositif d'extraction de type Clevenger. De ce fait, 300 g de la matière végétal sèche a été placée dans un ballon, contenant 1 L de l'eau distillée et surmonté d'une colonne de 55 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Ensuite, l'ensemble a été porté à l'ébullition pendant une durée de 2 heures et 45 minutes. Les huiles essentielles extraites ont été récupérées et déshydratées par sulfate de sodium (Na_2SO_4), et puis conservées dans des bouteilles opaques fermés hermétiquement à 4 ± 1 °C. Le rendement (R) en huile essentielle est calculé en utilisant la formule ci-dessous :

$$R\ (\%) = \frac{\text{Masse d'huile essentielle (g)}}{\text{Masse du matériel végétal utilisé (g)}} \times 100$$

II. Analyse de la composition chimique : Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM)

1. Conditions opératoires

L'appareil de chromatographie en phase gazeuse de Hewlett-Packard (HP6890) (Santa Clara, CA, USA) couplée à la spectrométrie de masse (HP5973) a été utilisé pour l'identification des composants chimiques des huiles essentielles. Le système est équipé d'une colonne capillaire HP-5-MS en silicone phénylméthyle à 5 % (30 m × 0,25 mm × épaisseur de film de 0,25 µm). La température de la colonne utilisée est passée de 50 °C pendant 5 min à 200 °C avec un taux de 4 °C/min. Le gaz vecteur de chromatographie était L'hélium (1.8 mL/min). De plus, une tension d'ionisation de 70 eV, une température de source d'ions de 230 °C et une gamme de balayage de 35-450 (m/z) ont été les conditions de fonctionnement de la spectrométrie de masse. La température de l'injecteur et du détecteur était de 250 °C et le temps de maintien était de 48 min. Le machine était pilotée par un système informatique de type "HP ChemStation", dirigeant son fonctionnement permettant de suivre la progression des analyses chromatographiques. Les huiles diluées (1/10 dans le méthanol) de 0,5 µL ont été injectés manuellement.

2. Identification des constituants

Les différents composés volatils a été identifés par comparaison de leurs spectres de masse et leurs indices de kovats (IK) déterminés par rapport à une série d'alcanes (C_8-C_{24}), avec ceux des standards contenus dans les bases de données WILEY et NIST (Adams, 2017, 2001).

III. Étude de l'activité antimicrobienne

1. Microorganismes, culture et conditions de conservation

Le choix des microorganismes a été porté sur 12 souches connues par leur résistance aux antibiotiques et leur implication dans la détérioration des aliments ou leur pouvoir pathogène. Les souches microbiennes font partie de la collection du laboratoire de Biotechnologie Microbienne et de Molécules Bioactives (LBM2B). Il s'agit de *Staphylococcus aureus* (ATCC (American Type Culture Collection) 29213), *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Micrococcus luteus* ATCC 14452, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica, Bacillus cereus, Klebsiella pneumoniae, Candida albicans, Candida tropicalis, Mycobacterium aurum, Mycobacterium smegmatis*. Le tableau 3 présente les caractéristiques des souches étudiées.

Tableau 3. Caractéristiques des souches microbiennes étudiées.

Souches tests	Type	Mobilité	Milieu d'isolement	Pathogénicité
E. coli	Bacille à gram -	Mobile (flagelles péritriches)	Gélose éosine au bleu de méthylène (EMB)	Non pathogène
M. luteus	Cocci à gram +	Immobile	Gélose trypticase soja (TSA)	Non pathogène
S. aureus	Cocci à gram +	Immobile	Gélose Baird-Parker	Pathogène
P. aeruginosa	Bacille à gram -	Mobile (ciliature polaire monotriche)	géloses Drigalski, Hektoën, Mac Conkey et cétrimide	Non pathogène
B. cereus	Bacille à gram +	Mobile (ciliature péritriche)	Géloses au lait et de mossel	Non pathogène
B. subtilis	Bacille à gram +	Mobile (ciliature péritriche)	Géloses au lait et de mossel	Non pathogène
K. pneumoniae	Bacille à gram -	Immobile	Drigalski, EMB, Hektoen	Non pathogène
S. enterica	Bacille à gram -	Mobile (ciliature péritriche)	Gélose Salmonella Shigella (SS)	Non pathogène
M. aurum	Bacilles acido-alcoolorésistants (BAAR)	Immobile	Gélose de Sauton	Non pathogène
M. smegmatis	BAAR	Immobile	Gélose de Sauton	Non pathogène
C. albicans	Levure	Mobile	Gélose yeast peptone glucose (YPG)	Pathogène
C. tropicalis	Levure	Mobile	Milieu yeast peptone glucose	Pathogène

Les souches microbiennes ont été conservées dans des tubes Eppendorfs contenant 0,5 mL de l'inoculum (germe + milieu de culture) et 0,5 mL de glycérol (à des pourcentages différents selon le type de microorganisme) et maintenues à – 20 °C. Ceci permet d'assurer une conservation pendant une longue période. Cependant, pour une conservation à court terme, les souches ont été maintenues sur un milieu gélosé incliné à 4 °C. Avant utilisation, les souches microbiennes ont été revivifiées par deux sous-cultures dans un milieu de culture approprié pendant une période bien déterminée (tableau 4).

Tableau 4. Milieux de culture et conditions d'incubation en fonction des germes.

Microorganismes	**Milieux de Culture (test antimicrobiennes)**	**Conditions de culture**
Bactéries	Gélose de Muller Hinton (MH)	37 °C pendant 24 h
Levures	Yeast peptone glucose (YPG)	30 °C pendant 48 h
Mycobactéries	Gélose de Sauton	37 °C pendant 48- 72 h

2. Préparation du standard 0,5 McFarland

Le standard 0,5 McFarland est utilisé pour mesurer la turbidité lors de la préparation des suspensions microbiennes. Il est préparé comme suit : 0,05 mL de la solution chlorure de baryum ($BaCl_2$) à 1,175% est ajouté à 9,95 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4, 0,18 moL/L). L'absorbance de 0,08 à 0,10 correspond à 0,5 McFarland à une longueur d'onde (λ) de 625 nm (Hombach et al., 2012).

3. Préparation d'inoculum

3.1 Bactéries

A partir d'une culture jeune, 2 à 3 colonies pures bien isolées de chaque souche étudiée ont été raclées à l'aide d'une anse stérile, puis mises en suspension dans une solution d'eau physiologique stérile (NaCl à 0,9 %). La turbidité de la suspension bactérienne doit être équivalente au standard McFarland 0,5 (~10^8 UFC/mL).

La concentration finale de l'inoculum varie selon le test à effectuer, la concentration de 10^8 UFC/mL est utilisée pour le test d'aromatogramme, en contrepartie une concentration de 10^6 UFC/mL a servie pour la détermination des CMIs des échantillons seuls et pour les tests de formulation.

Enfin pour préparer 10 mL d'inoculum bactérien de 10^6 UFC/mL, 0.1 mL de l'inoculum préalablement préparé (~10^8 UFC/mL) a été ajouté à 9.9 mL de milieu liquide Muller Hinton (MHB) supplémenté de 0,15% d'agar.

3.2 Espèces de *Candida*

En utilisant la même démarche, deux inocula sont préparés pour les souches de *Candida* : Le 1er équivalent à 10^6 UFC/mL utilisé pour le test d'aromatogramme (diffusion sur disque d'agar) et le 2ème équivalent à 10^3 UFC/mL utilisé pour la détermination des CMIs en suivant les instructions du comité national pour les normes de laboratoire clinique, États-Unis NCCLS (Rennie et al., 2012)

4. Diffusion sur disque

La méthode de diffusion sur disque également connue sous le nom d'aromatogramme a été utilisée comme une étape préliminaire pour mesurer les diamètres d'inhibition produits par les huiles autour du disque. Le protocole adopté était décrit par CLSI 2012 (Rennie et al., 2012) et généralement utilisé pour les tests d'activité antimicrobienne des antibiotiques car il y a un manque de protocoles établis et normalisés pour les tests des HEs (Burt, 2004). Pour chaque souche, une suspension a été préparée dans du MHB, supplémenté de 0,15% d'agar. La densité optique (DO) a été ajustée à la norme McFarland de 0,5 (absorbance autour de 0,08-0,1 à 600 nm). Le Mueller Hinton agar (MHA) a été utilisé pour étaler sur plaque la suspension avec un écouvillon stérile, puis des disques de papier filtre stériles (6 mm) ont été placés sur la boite inoculée. Ensuite, 6 µL de chaque huile pure a été utilisée pour imprégner les disques de papier (porosité 20-25 µm). Ce volume a été choisi afin d'empêcher la fuite des composés vers la zone autour du disque. Les bactéries ont été laissées incuber pendant 20 heures à 37 ºC. Par contre, les levures ont été incubées pendant 48 heures à 30 ºC. La vancomycine, chloramphénicol et le clotrimazole ont été utilisées comme des contrôles positifs pour les bactéries et les espèces de *Candida*, respectivement. Après incubation, les halos d'inhibition ont ensuite été mesurés et exprimé en (mm) (figure 15).

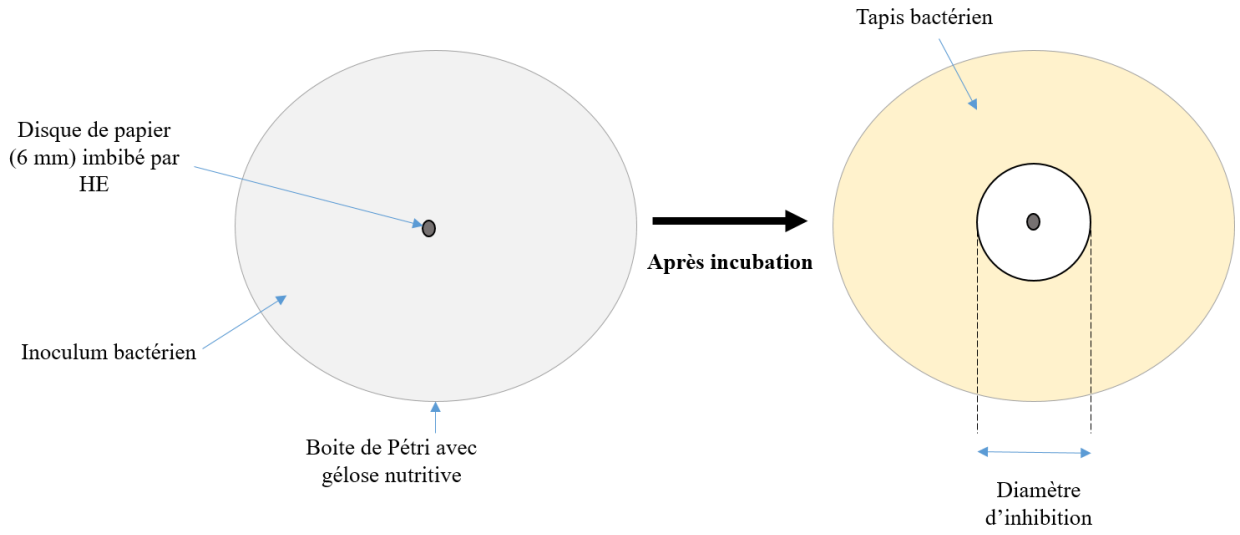


Figure 15. Schéma descriptif de la méthode de diffusion sur disque d'agar.

Les résultats de ce test peuvent être interprétés en fonction du diamètre de la zone d'inhibition (Z.I). En effet, l'activité de l'huile essentielle est classée selon Alrajhi et al. (2019):

- Faible activité à 10 mm ;
- Activité modérée : 10 < Z.I <15 mm ;
- Forte activité à >15 mm ;
- Très forte activité >20 mm.

5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les CMIs des HEs ont été déterminées par de la méthode de microdilution en milieu liquide en utilisant les microplaques de 96 puits stériles (Benkhaira et al., 2022; El Hachlafi et al., 2023b). La CMI est définie comme étant la dilution maximale de l'échantillon (huile) qui produit une inhibition complète de la croissance détectée à l'œil nu du microorganisme test après l'incubation. Des concentrations d'HE allant de 8,0 % à 0,007 % (v/v) ont été dilués dans le milieu approprié (MH, Sauton, YPG) contenant 0.15 % d'agar. De plus, 50 µL de la culture bactérienne préalablement préparée ont été déposés dans chaque puits et ensuite les microplaques ont été incubées pendant 24 heures pour les bactéries et 48-72 heures pour les mycobactéries à 37 °C. La même méthodologie a été utilisée avec les levures après avoir remplacé le milieu bactérien (MH, Sauton) par un bouillon d'extrait de levure peptonée (YPG), puis elles ont été incubées pendant 48 heures à 25 °C.

Le milieu de culture contenant 0,15 % d'agar sans suspension microbienne a été utilisé comme contrôle de croissance. La vancomycine, le chloramphénicol et le clotrimazole ont été utilisées comme des contrôles positifs pour les bactéries Gram$^+$; Gram$^-$ et les espèces de *Candida*, respectivement. Après 1 h d'incubation, 15 µL de résazurine (RZ) ont été ajoutés à chaque puits pour révéler la croissance bactérienne. La résazurine est un colorant bleu faiblement fluorescent qui peut être réduit de manière irréversible en résorufine rose hautement fluorescente par désoxygénation. En raison de la fiabilité et de la sensibilité du changement de couleur de la fluorescence et de ses caractéristiques non invasives, la RZ a été largement utilisée comme indicateur redox dans les essais de viabilité/prolifération cellulaire pour les bactéries, les levures et les cellules de mammifères (figure 16).

N.B. Dans le cas des mycobactéries, la révélation a été réalisée par le MTT.

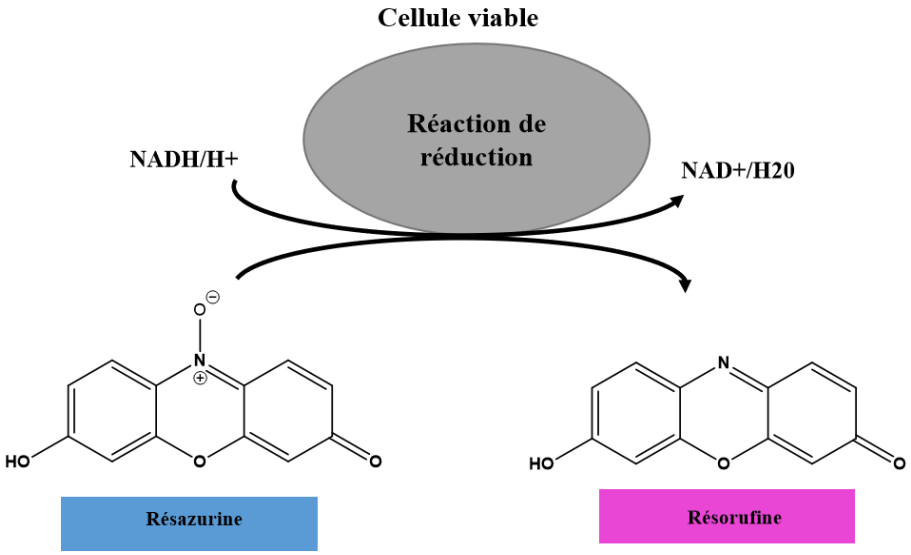


Figure 16. Réduction du résazurine en résorufine par oxydoréductases des cellules viables.

6. Concentration minimale bactéricide (CMB)/ Fongicide (CMF)

Les valeurs de CMB et CMF sont déterminées en sous-cultivant 10 µL des puits qui n'ont pas montré de croissance avec le test de CMI, dans des boîtes contenant un milieu de culture LB/Sauton pour les bactéries et YPG pour les levures, puis en incubant dans des conditions appropriées pour chaque microorganisme (CLSI, 2012). La CMB ou CMF correspond à la concentration minimale de l'échantillon testé capable de tuer les microorganismes étudiées (destruction de 99.9% de l'inoculum microbien) (Benkhaira et al., 2022).

7. Détermination du rapport CMB (CMF)/CMI

Les rapports CMB/CMI et CMF/CMI ont également été calculés afin d'élucider le mode d'action possible des huiles testées (Balouiri et al., 2016) (tableau 5).

Tableau 5. Détermination des effets bactéricide et bactériostatique des HEs.

CMB (CMF)/CMI	Effet
≤ 4	Bactéricide
4 <CMB (CMF)/CMI <32	Bactériostatique
≥ 32	Indiffèrent

IV. Plan d'expérience

1. Identification des facteurs et des réponses

Le plan choisi est un plan de mélanges centré augmenté à trois constituants. Les facteurs, représentant une fraction de chaque huile dans le mélange, sont des grandeurs censées influencer les variations de réponse, et peuvent aller de 0 à 1, avec la somme des trois proportions étant toujours égale à 1 (tableau 6). Il s'agit donc d'un mélange sans contraintes. Par ailleurs, les réponses correspondent à des effets antimicrobiens contre les souches étudiées, évalués par la méthode de microdilution (Détermination de CMI) décrite précédemment.

Tableau 6. Identification des facteurs et des réponses étudiées.

Composant	Code des variables	Niveau Inf	Niveau Sup	Réponse étudiée	Unité de mesure
Mentha suaveolens	S1	0	1	CMI	% (v/v)
Ammi visnaga	S2	0	1	CMI	% (v/v)
Lavandula stoechas	S3	0	1	CMI	% (v/v)
Somme des proportions			**1**		

2. Conception du mélange et modèle mathématique

Le développement de formulations des HEs comprenait 10 expériences et était affiché sous forme de triangle équilatéral (figure 17). Les sommets du triangle (S1, S2, S3) correspondent aux trois huiles pures. Les milieux des côtés (S4, S5, S6) consistent en des mélanges binaires (50%/50%), le centre du triangle est attribué aux mélanges ternaires (S7), cet essai a été répliqué trois fois, et trois points supplémentaires (S10, S11, S12) ont été alloués au mélange ternaire. Par conséquent, comme illustré dans la matrice expérimentale, le nombre d'expériences pour ce design était de douze. Cette procédure de conception expérimentale a été appliquée pour développer la formulation idéale tout en réduisant le nombre total d'expériences (Chraibi et al., 2023; Fadil et al., 2022). Elle permet donc d'identifier la relation existant entre les variables et les résultats expérimentaux mesurés. Dans cette étude, l'optimisation vise à déterminer les composants appropriés de la formulation fournissant la combinaison optimale des HEs présentant la meilleure activité antibactérienne. Le tableau 7 indique le ratio de chaque huile dans chaque formulation.

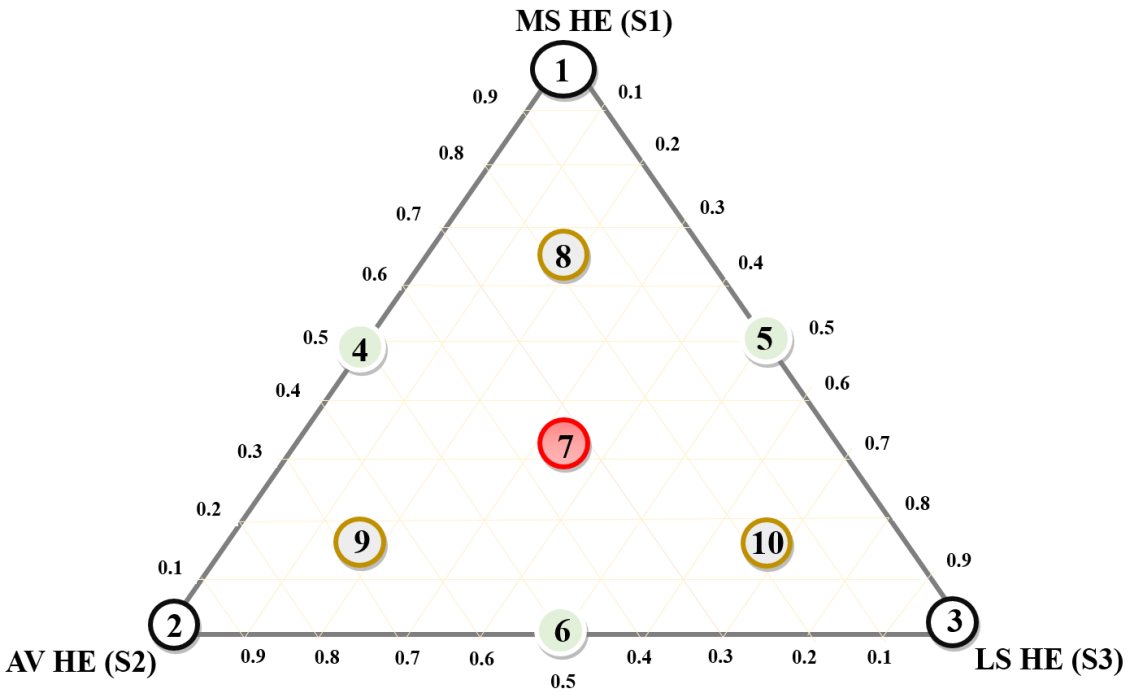


Figure 17. Aperçu de la conception des points expérimentaux pour un mélange à trois composants.

Tableau 7. Différentes combinaisons sélectionnées par le plan de mélange.

N° de l'expérience	*M. suaveolens* HE	*A. visnaga* HE	*L. stoechas* HE
1	1	0	0
2	0	1	0
3	0	0	1
4	0,5	0,5	0
5	0,5	0	0,5
6	0	0,5	0,5
7	0,333	0,333	0,333
8	0,333	0,333	0,333
9	0,333	0,333	0,333
10	0,667	0,167	0,167
11	0,167	0,667	0,167
12	0,167	0,167	0,667

Les essais ont été réalisés après randomisation.

Les données ont été ajustées à un modèle cubique spécial adoptant la régression des moindres carrés pour déterminer les coefficients non identifiés dans l'équation suivante :

$$Y = \sigma_1 S_1 + \sigma_2 S_2 + \sigma_3 S_3 + \sigma_{12} S_1 S_2 + \sigma_{13} S_1 S_3 + \sigma_{23} S_2 S_3 + \sigma_{123} S_1 S_2 S_3 + \varepsilon$$

Avec :

Y est la réponse exprimée en % pour la CMI ;

S_i présente the proportions des composants (i) dans le mélange ;

σ_1, σ_2, et σ_3 sont les coefficients des termes linéaires ;

σ_{12}, σ_{13}, et σ_{23} sont les coefficients des termes binaires ;

σ_{123} est le coefficient des termes ternaires ;

ε est le terme d'erreur.

3. Souches testées

Les formulations des HEs ont été testées sur trois souches bactériennes qui sont *Escherichia coli* (*E. coli)*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus).*

4. Préparation des mélanges

Les différentes combinaisons ont été émulsifiées en utilisant le milieu de culture MHB supplémenté de 0,15% d'agar. La proportion de chaque HE est ajoutée sur le bouillon, suivant le tableau 7, puis homogénéisé à l'aide du vortex.

5. Analyse statistique

Les logiciels Design Expert version 12 et JMP version 14 ont été utilisés pour la conception du plan d'expérience, ainsi que pour l'analyse statistique et graphique. Les résultats ont été exprimés en moyennes ± SD (n=3) (Jeddi et al., 2023). Le test ANOVA F a été appliqué pour valider la signification des modèles ajustés. Le ratio Fratio (R/r) entre la régression du carré moyen (MSR) et le carré moyen résiduel (MSr) a été utilisé à un niveau de signification de 95 %. La variabilité des données autour de leur moyenne est efficacement élucidée par la valeur F la plus élevée. En outre, le F ratio LOF/PE a été calculé sur la base de l'équation suivante :

$$\text{Rapport F LOF/PE} = \text{MSLOF}/\text{MSPE}$$

Avec : MSLOF est le carré moyen du manque d'ajustement ;
MSPE est le carré moyen de l'erreur pure.

Cette formule a été utilisée pour évaluer si le modèle correspondait de manière adéquate aux données observées. Des valeurs élevées du rapport F LOF/PE suggèrent un manque d'adéquation du modèle (Chraibi et al., 2023; Fadil et al., 2022). En outre, le coefficient de détermination (R^2) a été appliqué pour vérifier la qualité du modèle supposé, tandis que le test de Student a été utilisé pour affirmer ou rejeter la signification des coefficients estimés.

6. Outils d'optimisation

Des tracés d'optimisation 3D et 2D, élucidés par des courbes d'iso-réponse, ont été appliqués pour déterminer la zone de compromis optimale, démontrant l'excellente valeur des réponses étudiées.

Ces illustrations permettent de détecter les intervalles précis des facteurs ajustés, en montrant la relation entre la réponse souhaitée et les facteurs (Ez-zoubi et al., 2022; Ouedrhiri et al., 2022). En outre, le test de désirabilité a été réalisé pour atteindre avec précision la combinaison appropriée avec une proportion de compromis. Ce test permet de trouver un réglage optimal précis avec un taux compris entre 0 et 1. La valeur 0 est obtenue lorsque les facteurs fournissent une réponse indésirable, tandis que la valeur 1 indique la réponse souhaitée la plus élevée (Fadil et al., 2022).

V. Effet anti-adhésion

1. Préparation du matériau

Dans cette étude, un matériau en acier inoxydable précisément de type 304L de 1 cm de côté a été utilisé. La composition du matériau est la suivante : 18,95 % de chrome (Cr), 0,02 % de carbone (C), 1,11 % de silicium (Si), 7,93 % de nickel (Ni), 1,36 % de manganèse (Mn), le reste étant du fer (Fe) (Augereau et Despaux, 2000). Les coupons en acier inoxydable 304L ont été soumis à l'érosion à l'aide de papiers en carbure de silicium de 100 à 1500 grains. Les coupons ont ensuite été rincés à l'eau purifiée, puis déshydratés par ultrasons à l'aide d'éthanol et séchés à l'air. Avant chaque test, les coupons ont été désinfectés avec une solution d'éthanol, puis séchés pendant 30 minutes sous lumière UV.

2. Souches bactérienne cibles

Afin d'étudier l'impact des huiles essentielles étudiées et leurs formulations optimales sur le biofilm formé par les souches adhérentes sur l'acier inoxydable 304L, une souche à Gram positif : *S. aureus* et une autre à Gram négatif : *P. aeruginosa* ont été sélectionnées pour ce but.

3. Traitement de l'acier inoxydable 304L par les HEs

L'impact des HEs et de leurs mélanges optimaux sur les paramètres physicochimiques des coupons en acier inoxydable 304L a été évalué après avoir déterminé les valeurs 2 × CMI de chaque échantillon. La méthode de microdilution a permis d'obtenir les 2 × CMI suivantes : 0,125 % (v/v) pour *L. stoechas* et *A. visnaga*, et 0,025 % (v/v) pour *M. suaveolens* contre *S. aureus*, tandis que 0,5 % (v/v) était la 2 × CMI pour les trois HEs contre *P. aeruginosa*. Selon les données du plan de mélange, nous avons déterminé les valeurs 2 × CMI des mélanges optimaux des HEs contre *S. aureus* (mélange optimal 1) et *P. aeruginosa* (mélange optimal 2), qui sont respectivement de 0,0624 et 0,25 % (v/v). Ensuite, un volume de 12 µL de chaque échantillon a été placé sur la surface des coupons pendant 10 minutes (Zouine et al., 2022). Après adsorption des échantillons, les mesures d'angles de contact ont été réalisées.

4. Évaluation de l'angle de contact

Les propriétés physicochimiques de la surface de l'acier inoxydable 304L et des cellules bactériennes ont été déterminées à l'aide d'un goniomètre (GBX instruments, France) par la méthode de la goutte sessile (Lekbach et al., 2018).

Les angles de contact ont été mesurés à 25 ± 2 °C en utilisant l'eau, le formamide et le diiodométhane comme liquides de référence ayant des caractéristiques énergétiques connues (tableau 8). Une goutte de 2 µL du liquide testé a été distribuée sur la surface des échantillons et les angles de contact ont été mesurés 15 secondes après la stabilisation de la goutte. Le test a été réalisé en trois répétitions.

Tableau 8. Caractéristiques énergétiques (mJ/m^2) des liquides purs utilisés pour mesurer les angles de contact.

Liquide	γ^{LW} (mJ/m^2)	γ^{+}(mJ/m^2)	γ^{-}(mJ/m^2)
Eau	21,8	25,5	25,5
Formamide	39	2,3	39,6
Diiodométhane	50,5	0	0

Composant Lifshitz-van der Waals (γ^{LW}), le donneur d'électrons (γ^{-}) et l'accepteur d'électrons (γ^{+}).

5. Mesures de l'énergie libre de surface et de l'hydrophobicité

L'approche de Van Oss (Sadiki et al., 2017) a été utilisée pour définir les paramètres physicochimiques (γ+, γ-, et γLW) et l'énergie libre de surface (ΔGiwi) pour les coupons en acier inoxydable 304 L traités et non traités.

$$\gamma l\,(1 + \cos\theta) = 2.[(\gamma s\,LW.\,\gamma l\,LW)\,1/2] + 2.[(\gamma s +.\,\gamma l -)\,1/2] + 2.[(\gamma s - .\,\gamma l +)\,1/2]$$

Avec :

L et S désignent respectivement les phases liquides et la surface solide, tandis que θ correspond à l'angle de contact. La mesure de l'énergie libre totale de la surface γs est effectuée comme suit :

$$\gamma S = \gamma S\,LW + \gamma S\,AB$$

Où le paramètre de l'acide-base de Lewis est égal à :

$$(\gamma S\,AB) = 2(\gamma S - \gamma S +)1/2$$

L'hydrophobie qualitative a été détectée en mesurant l'angle de contact de l'eau (θw). Si θw est inférieur à 65°, la surface est considérée comme hydrophile, cependant, des valeurs plus élevées indiquent des matériaux hydrophobes. Par ailleurs, l'hydrophobie quantitative a été évaluée à l'aide de l'approche de Van Oss qui consiste à calculer l'énergie libre (ΔGiwi) d'interaction entre deux entités du matériau lorsqu'elles sont plongées dans l'eau.

Un ΔGiwi positif indique des surfaces hydrophiles, tandis que des valeurs négatives suggèrent des surfaces hydrophobes (Lekbach et al., 2018).

$$\Delta Giwi = -2\ [\ ((\gamma i\ LW)1/2\ -\ (\gamma w\ LW)1/2\ )2\ +\ 2((\gamma i\ +\ \gamma i-)\ ½\ +\ (\gamma w\ +\ \gamma w-)\ ½\ -\ (\gamma i\ +\ \gamma w-)\ ½) - (\gamma w\ +\ \gamma i-)\ ½)]$$

6. Évaluation de l'adhésion

Une culture bactérienne a été préalablement préparée dans du milieu LB pendant une nuit à 30 °C, puis les cellules ont été collectées par centrifugation (6000 rpm, 10 min), érodées deux fois avec une solution stérile de nitrate de potassium (KNO_3) 0,1 M, et mises en suspension dans la même solution. La densité optique de la suspension bactérienne a été ajustée à 0,4 (OD600nm). Les coupons en acier inoxydable 304L stérilisés ont été placés dans 10 mL de la suspension bactérienne préparée (Zouine et al., 2022). Le contrôle contenait des coupons stériles dans une solution de KNO3 0,1 M uniquement.

7. Expérience d'anti-adhésion

Les coupons préparés comme décrit précédemment ont été incubés pendant 10 h à 25 °C. Ensuite, les échantillons ont été rincés avec du tampon phosphate salin (PBS), et déshydratés avec des concentrations croissantes d'éthanol (de 5% à 100%) pendant 10 min pour éliminer les cellules non adhérées.

8. Microscopie électronique à balayage (MEB)

Le principe du microscope électronique à balayage (MEB) consiste en un balayage de la surface des échantillons par un faisceau d'électrons à haute tension, généré par une source d'électrons appelée canon, de façon synchrone et concentrée sur un plan particulier par rapport à l'échantillon à travers de lentilles électromagnétiques (objectifs). Ce processus engendre plusieurs interactions électron/matière qui produisent une émission de particules secondaires réfléchies de la surface des échantillons. Des détecteurs placés dans la chambre sous vide collectent ces signaux secondaires et le système de visualisation d'images peut ainsi modéliser des images en trois dimensions de la structure des échantillons. Ce mode d'analyse par MEB présente un avantage non négligeable permettant d'étudier les échantillons sans préparation préalable, ce qui leur permet de conserver leur état naturel (Zouine et al., 2022).

La morphologie de la surface de l'acier inoxydable 304L a été examinée à l'aide d'un MEB (JEOL, it500 HR, Japon). Ensuite, toutes les images MEB ont été traitées avec le programme Matlab afin de déterminer le pourcentage d'adhésion des cellules bactériennes. Le logiciel Matlab quantifie l'adhésion expérimentale en calculant le rapport entre la surface couverte par les cellules bactériennes et la surface totale de la surface acier inoxydable 304L.

VI. Activité antioxydante

1. Piégeage du radical libre DPPH

1.1 Mode opératoire

Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH) a été utilisé pour la détermination des activités de piégeage des radicaux libres des HEs (Liu et al., 2009). En bref, des aliquotes de 100 µL de différentes concentrations des HEs dissoutes dans l'éthanol ont été ajoutées à 750 µL d'une solution éthanolique de 0,004 % de DPPH. Le mélange a été agité par vortex, et après 30 min d'incubation, les absorbances ont été immédiatement déterminées par un spectrophotomètre à 517 nm. L'acide ascorbique et l'hydroxytoluène butylé (BHT), des antioxydants synthétiques, ont été utilisé comme contrôles positifs (0,1 à 0,0125 mg / mL). Les tests ont été effectués en trois répétitions.

L'activité de piégeage des HEs a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{AA (\%)} = \frac{\text{Abs control} - \text{Abs HE}}{\text{Abs control}} \times 100$$

Avec : AA : Activité Antioxydante ; Abs : absorbance.

1.2 Détermination de CI_{50} (µg / mL)

Les concentrations, de chaque huile, fournissant une inhibition de 50 % (CI_{50}) ont a été calculé selon la procédure suivante : Les taux d'inhibition (y) ont été tracés en fonction des concentrations des échantillons (x) aux 6 points, et la ligne de régression respective (y = ax + b) a été tracée.

Il n'était pas nécessaire que la ligne de régression passe par l'origine. En réalité, étant donné que la courbe d'inhibition n'était pas complètement droite mais légèrement courbée, nous pouvons calculer la valeur de CI_{50} en utilisant la méthode d'interpolation en reliant les deux points autour de l'inhibition de 50 % par une ligne droite, comme suit : Deux points encadrant un taux d'inhibition de 50 % ont été sélectionnés, et une ligne de régression (y = ax + b) a été tracée.

Ensuite, la concentration de l'échantillon (X) a été calculé en remplaçant la valeur de Y par 50 dans l'équation de régression y = ax + b.

2. Piégeage du radical libre ABTS

Le test de décoloration de l'ABTS+ a été réalisé comme décrit précédemment dans la littérature (El Omari et al., 2019). De manière concise, le cation radicalaire (ABTS+) a été produit en mélangeant des aliquotes équivaux de 7 mM de solution ABTS et 2,45 mM de solution de persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$). Le mélange a été incubé dans un endroit sombre à 25 °C pendant 14 à 16 heures. Ensuite, la solution ABTS+ obtenue a été diluée avec du méthanol jusqu'à atteindre une absorbance de 0,7 (± 0,03) à 734 nm. Ultérieurement, 2 mL de l'ABTS+ préparé ont été ajoutés à 200 µL de l'HE puis incubés pendant 3 min. L'absorbance a été lue à 734 nm et le potentiel antioxydant des HEs a été rapporté comme CI_{50} ± déviation standard (SD) (n = 3). L'acide ascorbique et le BHT ont été utilisés comme témoins.

3. Pouvoir réducteur

L'aptitude réductrice des HEs a été étudiée selon la méthode décrite par Bouyahya et al. (2017) avec de légères modifications. La solution réactionnelle a été préparée en mélangeant les HEs (0,5 mL) avec le tampon de phosphate (1,25 mL, 0,2 M, pH 6,6) et le ferricyanure de potassium (1,25 mL). Ensuite, les HEs ont été incubées dans un bain thermostaté à 50 °C pendant 25 minutes. Un volume de 1,25 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % a été ajouté pour arrêter la réaction, puis le mélange a été centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Après, 1,25 mL du surnageant ont été ajoutés à un mélange contenant 1,25 mL d'eau distillée et 0,25 mL de chlorure de fer (III) (0,1 %). L'absorbance a été lue à 700 nm contre un blanc qui inclut tous les réactifs sauf le chlorure de fer (III) et comparée à l'acide ascorbique et au BHT, utilisés comme étalons synthétiques. Le pouvoir réducteur a été exprimé en termes de valeurs de concentration efficace (CE_{50}) ± SD (µg/mL).

4. Test de blanchissement du β-carotène

Une solution mère a été préparée pour une émulsion de β-carotène-acide linoléique en dissolvant du β-carotène à 1 mg/mL dans 5 mL de chloroforme, et en ajoutant 10 mg d'acide linoléique et 100 mg de Tween 80. Le chloroforme est ensuite évaporé par un évaporateur rotatif à une température de 40 °C, puis 50 mL d'eau distillée ont été ajoutés avec agitation vigoureuse.

Ensuite, un volume de 2 mL de la solution obtenue, a été ajouté à 250 µL de l'HE à différentes concentrations. Après agitation, le mélange a été incubé pendant 2 h à 50 °C. Par ailleurs, deux témoins ont été préparés, l'un avec le BHT standard (témoin positif) et l'autre sans échantillons (blanc) (El Hachlafi et al., 2023; Kandsi et al., 2022).

L'absorbance à 470 nm a été immédiatement mesurée à 0 min, et ensuite après 2 heures d'incubation, pour chaque huile. L'activité antioxydante (AA) a été calculée en termes de pourcentage de couleur résiduelle à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{AA}\ (\%) = \frac{\text{A0} - \text{At}}{\text{A0}} \times\ 100$$

Avec :

At est l'absorbance de l'échantillon après 2 h et A0 est l'absorbance de l'HE au début de l'incubation.

Les résultats ont été exprimés en CI_{50} (concentration nécessaire pour causer une inhibition de 50 % : µg/mL).

VII. Activité antidiabétique

1. Inhibition in vitro de l'α-amylase pancréatique

Le potentiel inhibiteur des HEs étudiées contre l'α-amylase pancréatique a été évalué selon la procédure décrite par Thalapaneni et al. (2008). Le mélange d'essai contenant 200 µL de tampon phosphaté (0,2 M ; pH= 6,9), 200 µL de solution enzymatique d'α-amylase (13 UI), et 100 µL d'huiles testées à différentes concentrations (0,062, 0,12, 0,12, 0,25, 0,5 et 1 mg/mL) ou 100 µL d'acarbose (Contrôle) (0,45, 0,9, 2,25 et 4,5 mg/mL). Les mélanges ont été préincubés à 37 °C pendant 10 min. Ensuite, 200 µL d'amidon (1%) dissous dans du tampon phosphaté ont été ajoutés à chaque tube et ont été incubés pendant 20 min à 37 °C. Pour arrêter la réaction enzymatique, 600 µL de réactif coloré : l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) ont été ajoutés. Juste après, les tubes ont été incubés pendant 8 min à 100 °C, puis, ont été placés dans un bain d'eau glacée pendant quelques minutes. Le mélange a été dilué en ajoutant 1 mL d'eau distillée et l'absorbance a été mesurée à 540 nm. Le pourcentage d'inhibition a été établi à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'activité inhibitrice}\ = \frac{\text{DO test} - \text{DO contrôle}}{\text{DO contrôle}} \times 100$$

Avec, DO : la densité optique mesurée à 540 nm.

La concentration des échantillons inhibant 50 % (CI_{50}) de l'activité enzymatique de l'α-amylase est calculée graphiquement selon la fonction :

Pourcentage d'inhibition = f (log concentration de l'échantillon)

2. Inhibition in vitro de l'α-glucosidase intestinale

L'effet des HEs étudiées contre l'activité de l'α-glucosidase a été quantifié par calorimétrie en surveillant la libération de glucose lors de la dégradation du saccharose, selon le protocole décrit par Kim et al. (2005) avec quelques modifications. Les mélanges d'essai contenaient 100 µL de saccharose (50 Mm), 1000 µL de tampon phosphate (50 mM ; pH = 7,5) et 100 µL de solution d'enzyme α-glucosidase (10 UI). 10 µL de solutions d'eau distillée (Contrôle), d'acarbose (Contrôle positif) ou HEs à des concentrations différentes ont été ajoutés au mélange. Ensuite, le mélange a été incubé à 37 °C dans un bain-marie pendant 25 minutes. Ultérieurement, le mélange a été chauffé à 100 °C pendant 5 minutes afin d'arrêter la réaction enzymatique, et le glucose libéré a été estimé par la méthode de la glucose-oxydase à l'aide d'un kit commercial (God-Pod, USA).

L'absorbance a été mesurée à 500 nm et le pourcentage d'inhibition a été déterminé en utilisant l'équation ci-dessous :

$$\text{Pourcentage d'activité inhibitrice} = \frac{\text{DO test} - \text{DO contrôle}}{\text{DO contrôle}} \times 100$$

Avec :

DO : la densité optique mesurée à 500 nm ;

La concentration des échantillons inhibant 50 % (CI_{50}) de l'activité enzymatique de l'α-glucosidase est calculée graphiquement selon la fonction :

Pourcentage d'inhibition = f (log concentration de l'échantillon)

Partie III : Résultats et Discussion

I. Description, rendement et compositions chimiques des HEs

1. Caractéristiques et rendements des HEs étudiées

Le tableau X présente, le rendement et les caractéristiques organoleptiques des HEs obtenues à partir des parties aériennes d'*A. visnaga*, *L. stoechas* et *M. suaveolens*.

Tableau 9. Aspect, couleur et odeur des HEs des plantes médicinales étudiées.

Huiles essentielles	Aspect	Couleur	Caractéristiques organoleptique	Rendement (% v/w)
A. visnaga	Liquide	Transparent	Anisée et terreuse	1,12 ± 0,10
L. stoechas	Liquide	Jaune clair à orangé	Camphrée et amère	3,05 ± 0,28
M. suaveolens	Liquide	Jaune pâle	Mentholée	1,48 ± 0,13

L'hydrodistillation des parties aériennes d'*A. visnaga* a donné une HE avec un rendement moyen de 1,12 ± 0,10%. Une étude menée sur *A. visnaga* de la région de Meknès révèle un rendement en HE de 0,13 ± 0,05% (Soro et al., 2015). En outre, Satrani et al. (2006) ont reporté un rendement de 0,27% pour cette espèce dans la région d'Ouazzane en utilisant l'extraction par la technique d'entraînement à la vapeur. Zrira et al. (2003) ont montré que l'extraction par hydrodistillation des ombelles sèches de la même espèce de la région du Gharb a donné un rendement de 0,4%, tandis que l'extraction par fluide supercritique de ce même matériel végétal a augmenté le rendement à 1,5%. Une autre étude menée par Khadhri et al. (2011) a montré un rendement en HE de 0,2% à partir de fruits secs d'*A. visnaga* de Tunisie. Cependant, Khalfallah et al. (2011) ont signalé un rendement de 1,3% des échantillons d'Algérie.

Le rendement en HE de *L. stoechas* est de 3,05 ± 0,28% (v/w). Ce rendement est comparable à ceux reporté par d'autre études menées dans différent régions dans le Maroc (entre 2,85 et 3,34% v/w) ((Benali et al., 2023; Bouyahya et al., 2017; Ez zoubi et al., 2020). Toutefois, les populations de *L. stoechas* de différents localités d'Algérie ont des rendements en HEs inférieure varie entre 0,72% et 0,95% (Boukhatem et al., 2020; Laib, 2012).

En outre, d'après les observations de Insawang et al. (2019), les rendements en HEs issus de cinq variétés de *L. stoechas* originaires de Thaïlande se situaient entre 0,18% et 0,82%.

L'extraction par hydrodistillation des parties aériennes de *M. suaveolens* a produit une HE avec un rendement moyen de 1,48 ± 0,13%. Ce rendement est supérieur à celui rapporté dans des études précédent avec des échantillons de la région de Marrakech 0,77 ± 0,14% et 0,90 ± 0,20% (Kasrati et al., 2014, 2013). Cependant, le rendement d'extraction de l'HE de *M. suaveolens* provenant de la région de Khénifra a montré un pourcentage plus élevé (4,32 % ± 0,21 v/v) (Zerkani et al., 2021).

La variation des rendements en HEs peut être attribué à diverses conditions, surtout, la technique d'extraction utilisée, le processus de séchage, l'environnement de croissance de la plante, le génotype et l'origine géographique de la plante.

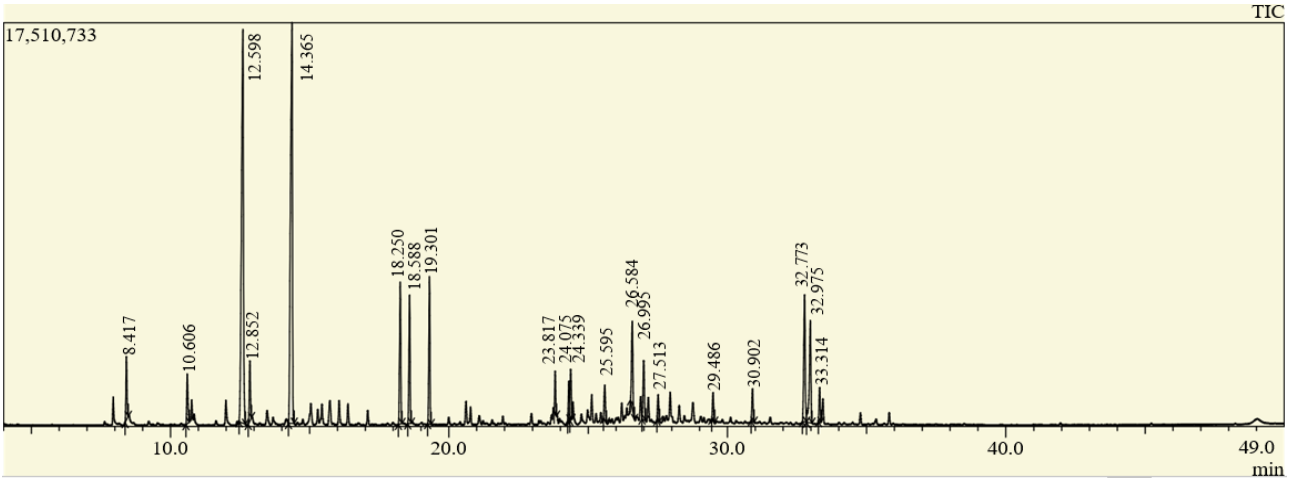
2. Identification chimique des HEs par CPG-MS

La composition chimique des HEs d'*A. visnaga*, *L. stoechas* et *M. suaveolens*, selon l'analyse par CPG-SM, ainsi que le pourcentage de chaque composé, l'ordre d'élution, la formule moléculaire et l'indice de Kovats (IK) sont résumés dans le tableau 10. Au total, 46 composés (figure 18) ont été identifiés dans les trois huiles étudiées. Vingt neuf, treize et dix constituants ont été identifiés dans les HEs d'*A. visnaga*, *M. suaveolens* et *L. stoechas*, respectivement, représentant 98,69 %, 96,17 % et 98,88 % de ces huiles.

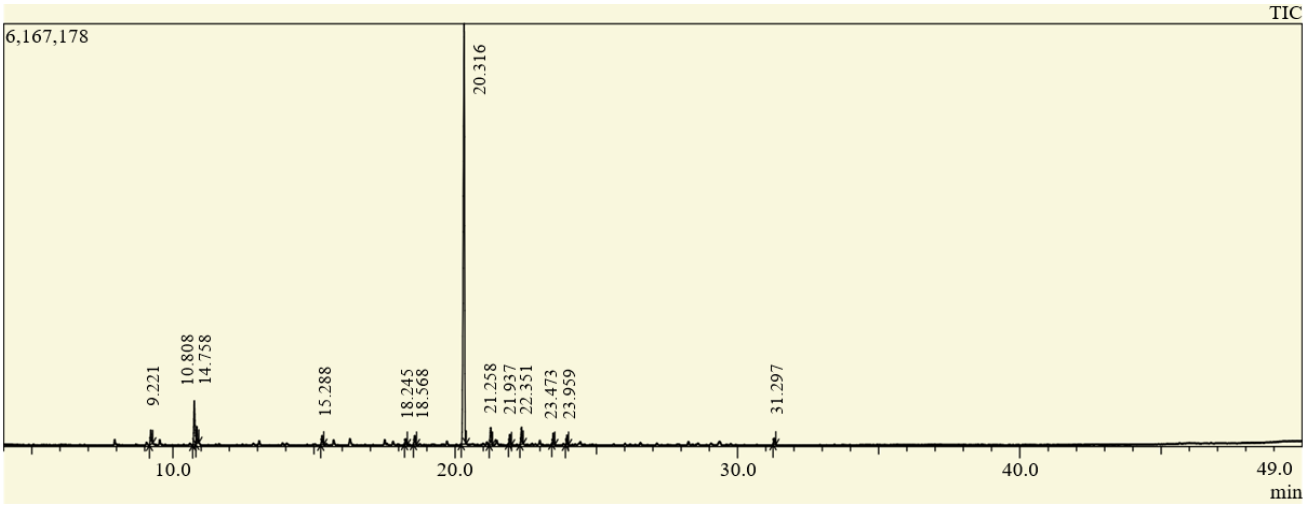
Les HEs de *L. stoechas* et *M. suaveolens* se caractérisent par une prédominance des monoterpènes oxygénés (83,76 % et 80,33 % respectivement) par rapport aux hydrocarbures (10,07% et 7,94%). Les sesquiterpènes sont présents uniquement à une teneur de 9,66% et 6,24% pour les HEs de *L. stoechas* et *M. suaveolens*, respectivement avec l'absence de composés sesquiterpéniques oxygénés dans l'HE de *M. suaveolens*. Les principaux composants identifiés dans l'HE de *L. stoechas* sont la fenchone (29,77 %), le camphre (24,9 %) et le linalol (10,36 %), tandis que l'oxyde de pipéritenone (74,55 %) est le composant majoritaire de l'HE de *M. suaveolens*. De plus, des molécules telles que le D-limonène (6,56 %), le 1,8-cinéole (4,73 %) et le germacrène D (3,52 %) ont également été observées en proportions relativement modestes dans cette huile.

L'HE d'*A. visnaga* est également dominée par la fraction monoterpénique (69,02%), dont 46,68 % de monoterpènes oxygénés et 22,34 % d'hydrocarbures monoterpéniques. Les sesquiterpènes sont présents à une faible concentration (5,15%) et avec l'absence des dérivés oxygénés. Le composant principal de cette HE est le linalol (38,29 %), conjointement avec l'acide butyrique (15,01 %) et le β-ocimène (5,07 %) comme composés majoritaires.

(a)



(b)



(c)

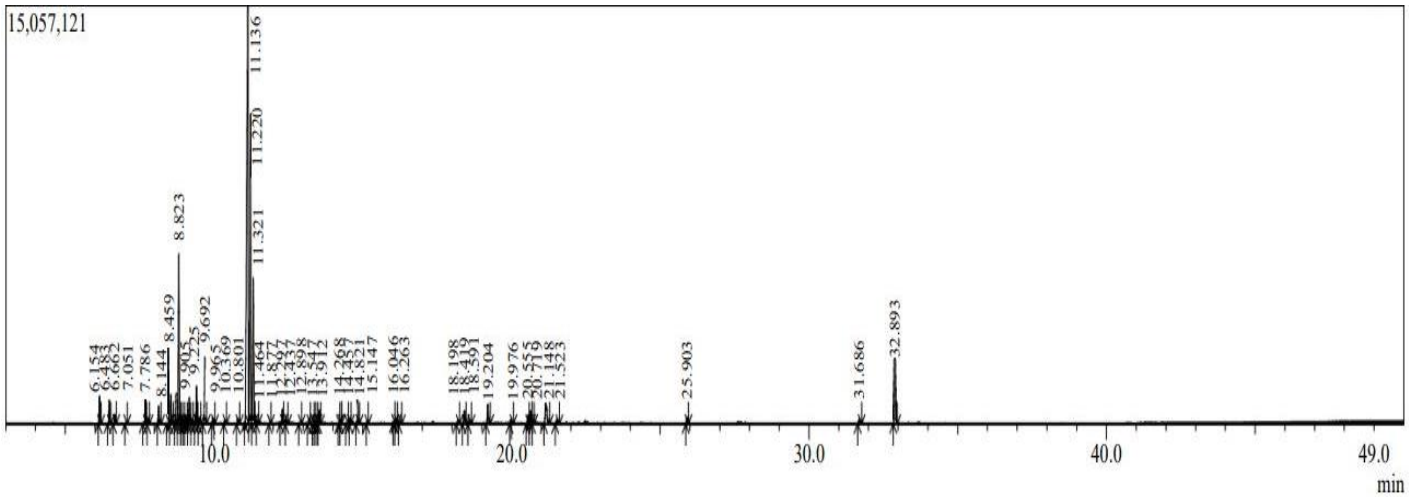


Figure 18. Chromatogramme d'analyse par GC-MS des HEs de **(a)** *L. stoechas*, **(b)** *M. suoveloens* et **(c)** *A. visnaga*

Tableau 10. Composition chimique (en %) des HEs étudiées.

N°	Composés	Formule moléculaire	IK[a]	*A. visnaga* HE	*L. stoechas* HE	*M. suaveolens* HE
				% Aire du pic relative		
1	Isovalérate d'allyle	$C_8H_{14}O$	910	1,1	-	-
2	*α*-Thujène	$C_{10}H_{16}$	921	1,04	-	-
3	*α*-Pinène	$C_{10}H_{16}$	943	1,44	-	-
4	Camphène	$C_{10}H_{16}$	952	2,33	7,16	-
5	Acide butyrique	$C_4H_8O_2$	957	**15,01**	-	-
6	*β*-Pinène	$C_{10}H_{16}$	965	3,11	-	-
7	*β*-Thujène	$C_{10}H_{16}$	968	2,16	-	-
8	*β*-Myrcène	$C_{10}H_{16}$	989	2,87	-	-
9	*δ*.4-Carène	$C_{10}H_{16}$	997	0,3	-	-
10	Isovalérianate d'isobutyle	$C_9H_{18}O_2$	1011	1,44	-	-
11	Isobutyrate d'isopentyle	$C_9H_{18}O_2$	1017	4,92	-	-
12	*o*-Cymène	$C_{10}H_{16}$	1026	0,37	2,91	-
13	1,8-Cinéole	$C_{10}H_{18}O$	1030	0,15	-	4,73
14	D-Limonène	$C_{10}H_{16}$	1031	3,31	-	6,56
15	*β*-Phellandrène	$C_{10}H_{16}$	1035	0,3	-	-
16	*β*-Ocimène	$C_{10}H_{16}$	1048	5,07	-	-
17	Oxyde de linalol	$C_{10}H_{18}O_2$	1075	2,18	-	-
18	Linalol	$C_{10}H_{18}O$	1082	**38,24**	**10,36**	-
19	Fenchone	$C_{10}H_{16}O$	1088	-	**29,77**	-
20	Camphre	$C_{10}H_{16}O$	1138	-	24,9	-
21	Terpinène-4-ol	$C_{10}H_{18}O$	1176	-	-	1,38
22	Isopinocampheol	$C_{10}H_{18}O$	1180	-	-	2,16
23	*α*-Terpinéol	$C_{10}H_{18}O$	1184	0,7	-	-
24	Pulégone	$C_{10}H_{16}O$	1212	2,11	-	-

25	Géraniol	$C_{10}H_{18}O$	1239	0,1	-	-
26	Acétate de bornyle	$C_{12}H_{20}O_2$	1277	-	5,3	-
27	2-Undécanone	$C_{11}H_{22}O$	1290	0,74	-	-
29	Carvacrol	$C_{10}H_{14}O$	1298	-	4,9	-
29	Acétate de myrtenyl	$C_{12}H_{18}O_2$	1314	-	5,51	-
30	Oxyde de pipériténone	$C_{10}H_{14}O_2$	1366	-	-	**74,55**
31	Copaène	$C_{15}H_{24}$	1370	1,18	-	-
32	Isovalérate de benzyle	$C_{12}H_{16}O_2$	1394	0,78	-	-
33	Isobutyrate de lavandulyle	$C_{14}H_{24}O_2$	1416	1,2	-	-
34	Caryophyllène	$C_{15}H_{24}$	1421	-	-	1,32
35	β -Farnesene	$C_{15}H_{24}$	1451	3,29	-	-
36	Germacrène D	$C_{15}H_{24}$	1500	0,68	-	3,52
37	β -Himachalène	$C_{15}H_{24}$	1503	-	-	1,4
38	Lavandulyl 2-méthylbutanoate	$C_{16}H_{28}O$	1504	2,09	-	-
39	γ-Cadinène	$C_{15}H_{24}$	1513	-	1,28	-
40	δ-Cadinène	$C_{15}H_{24}$	1519	-	1,88	-
41	Butyrate de citronellyle	$C_{14}H_{26}O_2$	1526	0,48	-	-
42	Cubebol	$C_{15}H_{26}O$	1584	-	2,68	-
43	α-Copaène-8-ol	$C_{15}H_{24}O$	1587	-	1,43	-
44	Viridiflorol	$C_{15}H_{26}O$	1589	-	2,39	-
45	Cinérolon	$C_{10}H_{14}O_2$	1641	-	-	2,32
46	Atlantone	$C_{15}H_{22}O$	1698	-	-	0,94
	Total			**98,69**	**96,17**	**98,88**
	Monoterpènes hydrocarbures			22,34	10,07	7,94
	Monoterpènes oxygénés			46,68	80,33	83,76
	Sesquiterpènes hydrocarbures			5,15	7,27	6,24
	Sesquiterpènes oxygénés			-	2,39	-
	Autres			24,47	-	0,94

[a] Indice de Kovats.

Ces résultats corroborent avec ceux rapportés par d'autres études menées sur les HEs de *L. stoechas* et *M. suaveolens* au Maroc. En effet, Bouyahya et al. (2017) ont trouvé que les HEs de *L. stoechas* collectées dans la région de Ouezzane sont riches en fenchone et en camphre. Cependant, une autre étude réalisée par Cherrat et al. (2014) a indiqué que les principaux composants de l'HE de *L. stoechas* sont le cubénol, le 10s,11s-Himachala-3(12),4-diène, le méthyle eugénol et le δ-cadinène. En dehors des chémotypes camphre/fenchone, l'identification chimique de l'HE de *L. stoechas* a révélé la présence de camphène, d'eucalyptol, de linalol, d'eugénol, de δ-cadinène et de α-cardinol dans différentes régions du Maroc (Benabdelkader et al., 2011; Ez zoubi et al., 2020). Pourtant, d'autres composants, tels que le p-cymène, le bornéol, le caryophyllène, le menthol, l'acétate de linalyle, ont été caractérisés comme composants majoritaires (Biltekin et al., 2022; Bozkurt et al., 2020; Gören et al., 2002). Des études antérieures menées dans d'autres régions du monde ont indiqué la présence d'autres chémotypes dans les HEs de *L. stoechas* tels que la pulégone, p-cymène et l'eucalyptol (Benabdelkader et al., 2011; Carrasco et al., 2015; Hassiotis, 2010).

Il est intéressant de noter qu'une investigation récente effectuée par Benali et al. (2023) a montré des différences quantitatives et qualitatives dans la composition chimique des HEs de *L. stoechas* collectées dans trois régions du Maroc (Taza, Khénifra et Beni Mellal). Ils ont indiqué que les HEs de *L. stoechas* de la région de Taza sont riches en fenchone (14,39%) et en aldéhyde cadinique (10,61%), tandis que les HEs de *L. stoechas* collectées à Khénifra et Beni Mellal sont principalement dominées par le cubébol (22,68%)/ camphre (22,29%) et le τ-muurolol (18,40%)/ cubébol (16,07%)/ camphre (13,40%), respectivement (Benali et al., 2023). Cela confirme l'affirmation selon laquelle les conditions écologiques, climatiques et nutritionnelles de la plante influencent la production de composants volatils. En effet, de nombreuses études ont mis en évidence la corrélation positive entre la variation des facteurs extrinsèques et intrinsèques des plantes, tels que le climat, le contenu du sol, les voies métaboliques et les constituants chimiques des HEs (Baldwin and Oberbauer, 2022; Laftouhi et al., 2023).

En ce qui concerne l'HE de *M. suaveolens*, des recherches précédentes menées au Maroc ont également révélé que l'oxyde de pipéritenone était le composant majeur de cette HE avec des pourcentages relatifs supérieurs à 60 % (Benali et al., 2020; Zekri et al., 2016, 2013; Zerkani et al., 2021). Cependant, la pulégone (32,09 %) et le β-caryophyllène (26,67 %) sont identifiés comme des composants majeurs dans les échantillons de *M. suaveolens* de Tunisie (Riahi et al., 2013).

D'autres études ont indiqué que la pulegone, la menthone et le carvéol sont les principaux composés. Hussain et al. (2010) et Boukhebti et al. (2011) ont analysé la composition chimique des huiles essentielles de *M. suaveolens* du Pakistan et d'Algérie pour lesquelles le composé majoritaire était le carvone avec des pourcentages respectifs de 59,5 % et 59,4 %.

En revanche, le profil chimique de l'HE d'*A. visnaga*, qui pousse à l'état sauvage dans le Nord-Ouest du Maroc, n'a pas encore été bien élucidé à l'aide d'une analyse CPG-SM. Toutefois, des études menées dans d'autres régions ont révélé une large gamme de composés volatils. En Tunisie, Khadhri et al. (2011) ont identifié le linalol, le 2-méthyl-butyrate d'isoamyle et l'isopentyl-isovalérate comme étant les composés dominants de l'HE d'*A. visnaga*. En outre, le 2-méthylbutyrate, le linalol, le limonène et l'isovalérate d'isoamyle constituaient les principales molécules de l'HE d'*A. visnaga* originaire d'Algérie (Keddad et al., 2016). Dans une autre étude menée par Talaat et al. (2014) sur *A. visnaga* cultivée en Egypte, le thymol, l'acétate de fenchyle, l'acide 2,2-diméthyl butanoïque, l'isobutyrate d'isobutyle, l'α-isophorone et le linalol étaient les composés les plus abondants. Cependant, l'hydrate de cis-pinène, l'octadécanoate de méthyle, le γ-terpinène et le (E)-ß-ocimène représentaient les principaux composants de l'HE d'*A. visnaga* d'origine iranienne (Akaberi et al., 2020).

Cette différence s'explique principalement par la variabilité des conditions écologiques entre les origines géographiques des plantes. Il convient de noter que Khalil et al. (2020) ont montré que la composition chimique de l'HE d'*A. visnaga* est variable entre plusieurs régions.

Il est prudent de dire que la composition chimique des huiles essentielles est susceptible de varier qualitativement et quantitativement en fonction de la partie de la plante et de son stade végétatif. Plusieurs études ont porté sur la variabilité du profil chimique des HEs d'*A. visnaga*, de *L. stoechas* et *M. suaveolens* (Benali et al., 2020; Bouyahya et al., 2017; Talaat et al., 2014). Elles ont suggéré que cette fluctuation peut être attribuée à la différence de biotypes et d'origines géographiques, en particulier aux variations de l'environnement de croissance de la plante, telles que la nature du sol, le rayonnement solaire et les conditions climatiques. Ces facteurs environnementaux peuvent affecter l'expression de certaines enzymes clés, conduisant à la régulation de la biosynthèse, du métabolisme et de la sécrétion des métabolites secondaires (Mandoulakani et al., 2017).

II. Activité antimicrobienne

1. Diffusion sur disque d'agar - Criblage antimicrobien

L'activité antimicrobienne des trois huiles essentielles étudiées a été d'abord évaluée à l'aide de la technique de diffusion sur disque d'agar. Cette méthode permet un criblage préliminaire de l'effet bactériostatique des HEs avec des données principalement qualitatives en catégorisant la sensibilité des microorganismes (sensibles, intermédiaires ou résistantes) (Abdallah, 2016, 2011). D'une manière générale, cette technique offre de nombreux avantages par rapport aux autres méthodes : simple, de faible coût, permet de tester différent types de microorganismes et d'agents.

Les zones d'inhibition obtenues pour les bactéries, les mycobactéries et les espèces de *Candida* sont représentées par les figures 19 (a), (b) et (c), respectivement.

L'analyse des résultats obtenus montre que les trois HEs étudiées montrent une activité vis-à-vis des 12 souches microbiennes testées, à savoir les bactéries, les mycobactéries et les espèces de *Candida*. En effet, l'HE de *L. stoechas* s'est avérée la plus active contre toutes les souches bactériennes testées avec des diamètres d'inhibition allant de 14,56 ± 1,66 mm à 34,15 ± 2,37 mm. L'huile essentielle de *M. suaveolens* possède également une activité antibactérienne relativement importante avec des diamètres d'inhibition qui varient entre 10 ± 0,5 mm et 28,66 ± 2,4 mm. Cependant, l'huile essentielle d'*A. visnaga* a démontré le plus faible pouvoir inhibiteur contre les souches bactériennes testées avec des diamètres d'inhibition qui varient entre 7,24 ± 1,00 mm et 21,33 ± 0,1 mm. Généralement les bactéries à gram positif, surtout les mycobactéries, *B. subtilis* et *M. luteus* ont montré une plus grande sensibilité aux HEs par rapport aux bactéries à gram négatif. Cependant, certaines bactéries à gram négatif telles que *S. enterica* et *P. aeruginosa* sont apparues sensibles aux HEs étudiées, surtout à l'HE de *L. stoechas*.

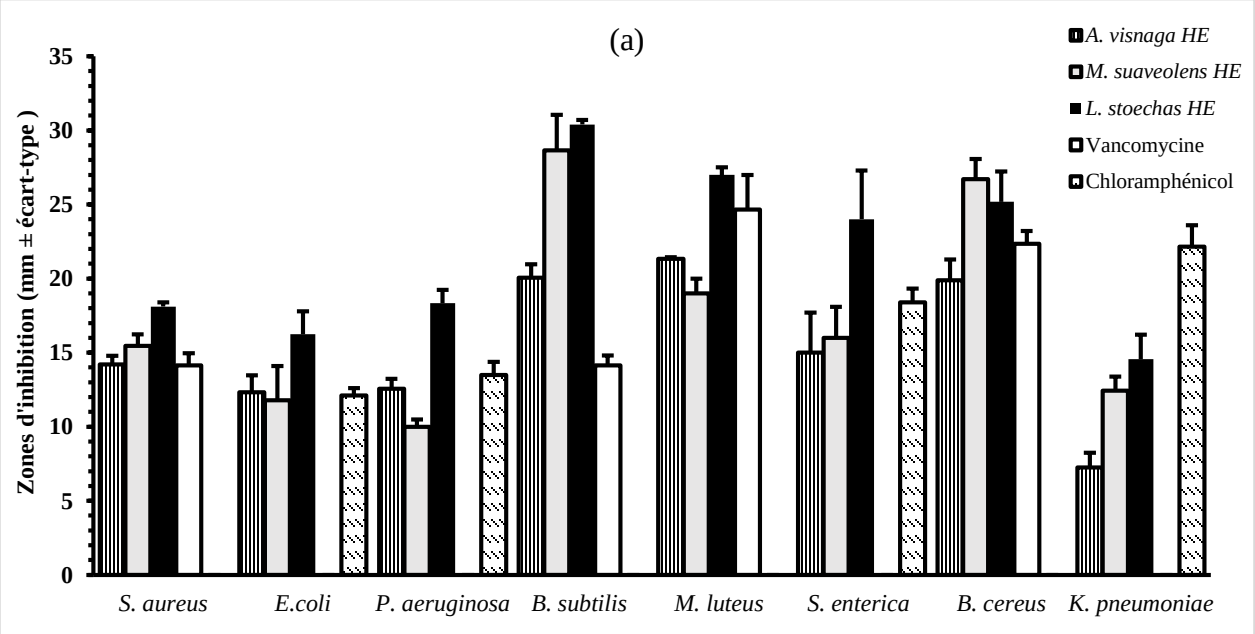
Selon plusieurs chercheurs, les bactéries à Gram négatif sont généralement moins sensibles à l'action des HEs que les bactéries à Gram positif, en raison de leur membrane externe entourant la paroi cellulaire qui restreint la diffusion des composés hydrophobes à travers son revêtement polysaccharidique (Cos et al., 2006; Cosentino et al., 1999; Hyldgaard et al., 2012; Trombetta et al., 2005). Cet événement semble être lié à la composition lipidique et à la charge nette de la surface des membranes microbiennes (Trombetta et al., 2005).

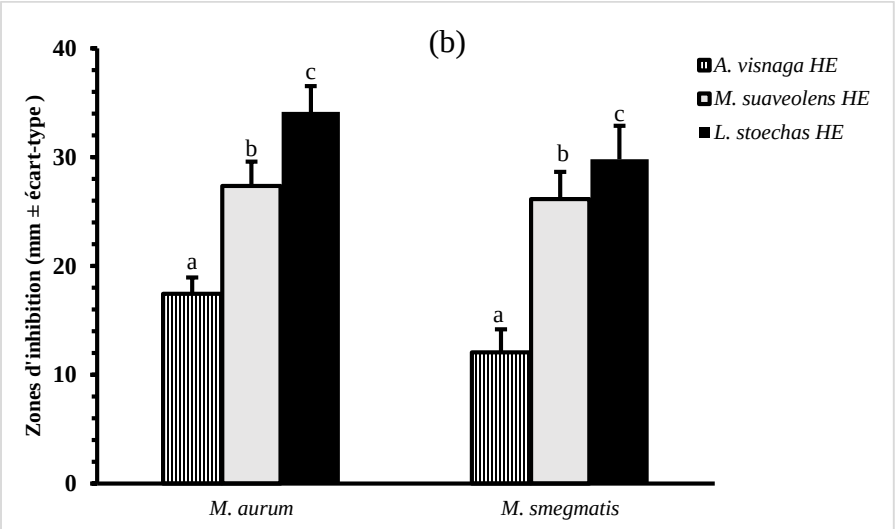
Cette affirmation n'est pas toujours vraie ; en effet, certains chercheurs n'ont trouvé aucune différence de sensibilité aux HEs entre les bactéries Gram-négatives et Gram-positives, alors que

d'autres ont trouvé une plus grande sensibilité chez les Gram-négatives (Gulluce et al., 2007; Petretto et al., 2014).

En ce qui concerne le potentiel antifongique, les résultats de la méthode de diffusion sur disque ont montré que l'huile essentielle de *M. suaveolens* a une forte activité antifongique contre *C. albicans* (28 ± 1,5 mm), et *C. tropicalis* (21,23 ± 0,87 mm). De plus, une activité antifongique intéressante a été également observée par l'HE de *L. stoechas* contre les deux souches de *Candida* : *C. albicans* (25,3 ± 0,15 mm), *C. tropicalis* (18,5 ± 2,13 mm). Cependant, l'HE d'*A. visnaga* a montré une activité modérée contre *C. albicans* et *C. tropicalis* avec des diamètres d'inhibition de 14 ± 1,5 mm et 13,78 ± 1,16 mm, respectivement. Les résultats étaient significatifs et comparables à l'agent antifongique de référence, Clotrimazole (figure 20c).

De plus, une étude antérieure a démontré une activité antibactérienne importante pour l'HE de *L. stoechas* cultivée en Turquie contre différentes souches bactériennes (Sarac and Ugur, 2009). En effet, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *M. luteus*, *Streptococcus mutans*, *E. coli*, *B. subtilis*, *Pseudomonas stutzeri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, et *Chryseomonas luteola* étaient les bactéries les plus sensibles à cette huile. L'huile essentielle de *L. stoechas* a aussi présenté une activité intéressante contre d'autres bactéries pathogènes comme *L. monocytogenes* (23 ± 0,85 mm) et *Proteus mirabilis* (14 ± 0,22 mm) (Bouyahya et al., 2017).





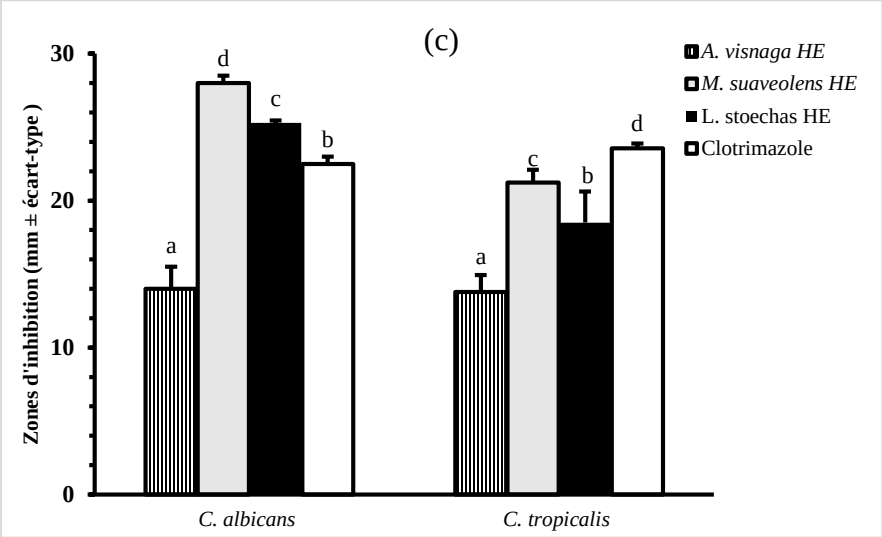


Figure 19. Activité antimicrobienne des HEs étudiées contre **(a)** les bactéries et **(b)** les mycobactéries **(c)** les espèces de *Candida* obtenue par la méthode de diffusion sur disque.

Les résultats sont exprimés en moyennes ± l'écart-type (n=3). Les données avec la même lettre présentent une différence non significative par le test de Tukey (ANOVA, $p < 0,05$). La vancomycine et le clotrimazole ont été utilisés comme contrôles positifs (15 µg/disque).

En outre, des études antérieures sur l'activité antifongique de l'HE de *L. stoechas*, de différentes origines, ont été réalisées. Benabdelkader et al. (2011) ont évalué l'activité antifongique de 11 huiles essentielles de *L. stoechas* et ont confirmé la présence d'une activité antifongique contre les levures (*C. albicans*) et aussi les champignons filamenteux (*Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum*).

De même, les HEs de *L. stoechas* testées sur les champignons filamenteux et les moisissures ont eu une activité antifongique sur diverses souches d'origine clinique (*C. albicans*, *Candida krusei* et *Candida guilliermondii*) et sur des dermatophytes (*Epidermophyton floccosum* et *Trichophyton mentagrophytes*), avec des zones d'inhibition très importantes (Zuzarte et al., 2013). L'huile essentielle de *L. stoechas* a également démontré une activité antifongique contre *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* (Angioni et al., 2006). L'activité antifongique de l'HE de *L. stoechas* peut être spécifiquement liée à la présence de composés antifongiques tels que le camphre, le linalool et la fenchone (Ahmad et al., 2022; Kamatou and Viljoen, 2008; Malabadi et al., 2021), ainsi qu'à l'effet synergique des constituants majeurs et mineurs de cette huile.

Plusieurs études ont porté sur les effets antimicrobiens des huiles essentielles d'*A. visnaga* montrant leur efficacité contre divers microorganismes tels que *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterobacter aerogenes* et *K. pneumoniae* (Satrani et al., 2006; Sellami et al., 2011; Soro et al., 2015). Toutefois, elles ont montré de faibles activités antifongiques (Feirouz and Salima, 2014). L'activité antimicrobienne de l'HE d'*A. visnaga* est essentiellement liée à ses composés majoritaires tels que linalool et *β*-ocimène et leurs groupes fonctionnels ainsi que les interactions entre les différents constituants de cette huile (majeurs et mineurs) (Burt, 2004). L'huile essentielle de *M. suaveolens* a aussi prouvé un pouvoir antimicrobien important contre plusieurs bactéries, levures, et moisissures. En effet, une étude récente réalisée par Fazal et al. (2023) a démontré que d'huile essentielle de *M. suaveolens*, cultivée au Pakistan, utilisée à différentes concentrations : 5, 10 et 15 µL, possède un effet antibactérien contre plusieurs souches. Les résultats ont montré que parmi les différentes espèces de *Mentha*, *M. suaveolens* était comparativement plus efficace contre *S. typhi* et *K. pneumoniae* avec des zones d'inhibition de 30,8 ± 1,9 et 20,1 ± 0,8 mm, respectivement. En outre, l'HE et l'extrait d'hydrolat de *M. suaveolens* provenant de Sarrola Carcopino, France, ont montré une activité antibactérienne satisfaisante contre *S. aureus* et *B. cereus* (diamètres de la zone d'inhibition compris entre 16 et 20 mm). Parmi les bactéries testées, on cite *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *S. enterica*, *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus bovis* et *Enterococcus faecalis* (Sutour et al., 2008).

L'activité antimicrobienne de l'HE des parties aériennes de *M. suaveolens* cultivées en Sardaigne (Italie) a été testée contre six espèces de *Lactobacillus* (dont quatre souches probiotiques), *Lactococcus lactis ssp. Lactis*, *Staphylococcus xylosus* et quatre souches fongiques (Petretto et al.,

2014). Les résultats du test de diffusion sur gélose ont indiqué que l'HE présentait un faible potentiel d'activité antibactérienne contre toutes les bactéries testées, avec des zones d'inhibition qui ne dépassent pas 9 mm à l'exception de *L. lactis ssp. lactis* et *S. xylosus* sur lesquelles elle a exercé une légère activité antibactérienne. Cependant, toutes les souches de levures testées, y compris *Saccharomyces cerevisiae*, *Kloeckera apiculata*, *Candida zemplinina* et *Metschnikowia pulcherrima* ont été inhibées, et l'huile a présenté une activité antifongique très efficace avec des diamètres d'inhibition qui dépassent 12,5 mm (Petretto et al., 2014).

2. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

L'activité antimicrobienne des trois HEs a également été déterminée par la méthode de microdilution en utilisant les microplaques à la résazurine afin de confirmer le pouvoir inhibiteur de ces HEs reporté par le test de diffusion sur disque d'agar. En effet, cette méthode est une technique quantitative clé qui permet de déterminer la CMI de chaque HE dans un milieu liquide et par conséquent préciser la nature de son effet (bactériostatique ou bactéricide). Les résultats de CMIs obtenus pour les 12 souches microbiennes testées sont représentés dans le tableau 11.

Tableau 11. CMI des HEs étudiées par rapport aux agents antimicrobiens synthétiques.

Microorganismes	CMI % (v/v)					
	A. visnaga	***L. stoechas***	***M. suaveolens***	**Vancomycine**	**Chloramphénicol**	**Clotrimazole**
E. coli	4	1	8	-	32	NU
P. aeruginosa	0,25	0,25	0,5	-	256	NU
S. aureus	0,5	0,5	1	8	-	NU
B. cereus	0,125	0,031	0,125	16	-	NU
B. subtilis	0,125	0,015	0,0625	16	-	NU
M. luteus	0,125	0,25	0,0625	8	-	NU
S. enterica	1	2	1	-	64	NU
K. pneumoniae	2	1	1	-	16	NU
M. aurum	1	0,25	0,5	-	-	NU
M. smegmatis	0,5	0,125	0,25	-	-	NU
C. albicans	0,125	0,125	0,0625	NU	NU	1,0
C. tropicalis	0,25	0,5	0,5	NU	NU	1,0

NU: Non-utilisé, R: Résistant. Vancomycine et Clotrimazole ont été utilisés comme des contrôles positifs.

D'une manière générale on constate que les HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens* et *A. visnaga* possèdent une activité vis-à-vis des 12 souches microbiennes testées. L'analyse des résultats des CMIs des trois HEs montre un potentiel inhibiteur important contre les bactéries, les mycobactéries et les espèces de *Candida*. En effet, l'HE de *L. stoechas* s'est avéré la plus active contre les souches testées. Les valeurs de CMI de cette HE varient entre 0,015 % (v/v) et 0,5% (v/v) pour les bactéries à gram positif et entre 0,25 % (v/v) et 2 % (v/v) pour les bactéries à Gram négatif. Les souches *B. subtilis* et *B. cereus* étant les plus sensibles à cette HE avec des valeurs de CMI de 0,015% (v/v) et 0,031% (v/v), respectivement. Cependant, *S. enterica* a montré sa résistance vis-à-vis l'HE de *L. stoechas* avec une CMI de 2 % (v/v). Cette huile a été également efficace contre les mycobactéries, avec des valeurs de CMIs de 0,125 % (v/v) et 0,25 % (v/v) contre *M. smegmatis* et *M. aurum*, respectivement.

De plus, l'HE de *L. stoechas* s'est révélée active contre *C. albicans* (CMI=0,125% (v/v)) et *C. tropicalis* (CMI= 0,5% (v/v)).

L'HE de *M. suaveolens* a démontré aussi un effet antimicrobien très intéressant contre toutes les souches microbiennes étudiées. Une sensibilité Gram-dépendante a été également notée, par conséquent, les bactéries à gram positif ont été plus sensibles que les bactéries à gram négatif. En effet, les valeurs de CMI de *M. luteus*, *B. subtilis* et *B. cereus* varient entre 0,0625% (v/v) et 0,125% (v/v), alors que celles de *S. enterica*, *K. pneumoniae* et *E. coli* dépassent les 1%. Une activité antifongique intéressante a été aussi observée par l'HE de *M. suaveolens* contre *C. albicans* (CMI=0,0625% (v/v)) et *C. tropicalis* (CMI= 0,5% (v/v)).

En outre, l'HE d'*A. visnaga* a montré les valeurs de CMI les plus faibles contre toutes les souches microbiennes étudiées, surtout vis-à-vis des souches *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. aurum* et *S. enterica.*

La détermination des CMIs des HEs étudiées permet de confirmer les résultats du test de diffusion sur disque selon laquelle les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux HEs testées que les bactéries à Gram négatif. Cette résistance intrinsèque est liée à la nature de sa membrane externe (présence de lipopolysaccharide (LPS)) (Burt, 2004; El Omari et al., 2022). Il convient de noter que les souches qui ont les plus grandes zones d'inhibition ne sont pas toujours les plus sensibles par le test de micro-dilution (possèdent les valeurs de CMI les plus faibles) (Bassolé et Juliani, 2012).

L'importance de l'évaluation antimicrobienne réalisée dans le cadre de cette étude provient des résultats prouvant que les HEs testées ont un potentiel inhibiteur exceptionnel et concurrentiel par rapport aux antibiotiques commercialisées. Actuellement, l'un des problèmes de santé les plus urgents est l'émergence de nombreux microorganismes résistants. Ce phénomène est dû à l'utilisation excessive d'antibiotiques, qui a entraîné une diminution de leur efficacité (Fadli et al., 2016). Par exemple, *E. coli* (O157:H7) est responsable des crises sanitaires les plus graves dans le monde, provoquant chaque année de plus 2 000 hospitalisations et 20 décès (Croxen et al., 2013).

S. aureus multi-résistant est responsable de pneumonies, de fasciites nécrosantes et de toxines potentiellement mortelles (Garoy et al., 2019). À ce jour, plus de 15 espèces de *Candida* ont été identifiées comme agents pathogènes d'infections sanguines (Xiao et al., 2019). Ces espèces affectent plus de 250 000 personnes chaque année, *C. albicans* étant responsable de la majorité des cas des candidémies (Razzouk et al., 2022).

Ces événements reflètent la nécessité urgente d'innover et de développer de nouveaux agents antibactériens à partir de sources alternatives telles que les HEs. Les valeurs de CMI des HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens* et *A. visnaga* suggèrent qu'elles sont très actives à des faibles concentrations (Ahmady- Asbchin et al., 2012; Aldogman et al., 2022; Benali et al., 2020; Feirouz and Salima, 2014; Kamal et al., 2022). En effet, ces résultats ont été confirmés par les études menées par Rasooli et al. (2007) et Feirouz et Salima (2014) qui ont indiqué que les HEs dérivées de la partie aérienne d'*A. visnaga* a montré une grand activité vis-à-vis des bactéries à gram positif, en particulier *S. aureus*, *B. subtilus* et *L. monocytogenes*. En outre, l'HE d'*A. visnaga* a également révélé un grand potentiel d'inhibition de la croissance des bactéries à gram négatif tel que *P. aeruginosa* aux concentrations plus faibles (Khalfallah et al., 2011). Khalil et al. (2020) ont aussi montré que l'HE d'*A. visnaga* avaient la capacité d'inhiber la croissance de *K. pneumoniae*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus faecalis* et *E. coli*.

L'HE de *M. suaveolens* a également montré un potentiel antibactérien très important non seulement contre les bactéries à gram positif comme *L. monocytogenes*, et *S. aureus* mais aussi vis-à-vis les bactéries à gram négatif, à savoir *E. coli*, et *P. aeruginosa* (Boutabia et al., 2020). Une autre étude réalisée par Benali et ses collègues (2020) a montré que l'HE de *M. suaveolens* avait la capacité d'inhiber le développement de bactéries phytopathogènes, telles que *Pseudomonas savastanoi* et *Clavibacter michiganensis* à des CMIs très faibles.

En ce qui concerne l'HE de *L. stoechas*, il a été remarqué que cette huile possède une forte activité antibactérienne contre *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* et *E. coli*.

L'activité antimicrobienne des HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens* et *A. visnaga* peut être attribuée à la prédominance des molécules bioactives appartenant à la classe de de monoterpènes. En effet, ces derniers sont connus par leur action sur la membrane plasmique bactérienne.

Il a été constaté que ces composés naturels présentaient une activité antimicrobienne significative en perturbant l'intégrité et la fonction de la membrane plasmique bactérienne. Par exemple, le carvacrol, un phénol monoterpénique présent dans l'huile d'origan, perturbe la membrane plasmique bactérienne en induisant une dépolarisation et une perméabilisation (Burt, 2004). De même, le thymol, un autre phénol monoterpénique présent dans l'huile de thym, provoquerait des lésions membranaires et la fuite de composants intracellulaires (Kachur and Suntres, 2020).

Dans notre étude, l'HE d'*A. visnaga* est caractérisée par la présence de linalol (38,24%), un alcool monoterpénique, qui a été rapporté comme un agent antimicrobien. Il exerce des effets antimicrobiens par le biais d'une perturbation de la membrane. Il peut augmenter la perméabilité de la membrane plasmique bactérienne et candidale, entraînant une fuite d'ions et de constituants cellulaires (Gill and Holley, 2006; Tampieri et al., 2005). En outre, plusieurs autres monoterpènes ont été étudiés pour leurs propriétés ciblant les membranes. Par exemple, l'eugénol, un composant majeur de l'huile du clou de girofle, peut perturber la membrane plasmique en interagissant avec les bicouches lipidiques et en altérant la fluidité de la membrane (Nazzaro et al., 2013).

L'HE de *M. suaveolens* est dominé par la fenchone et le camphre. Ces deux composés sont connus par leur pouvoir antimicrobien contre différents types de microorganismes.

Asghari et al. (2016) ont constaté que l'HE de *L. stoechas* exerce divers effets inhibiteurs sur *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Salmonella enteritidis*, et *E. coli*. Ces auteurs ont établi un lien entre l'effet observé et la présence de camphre (71,86%) dans la composition chimique de *L. stoechas*. En effet, une étude de Zafar et al. (2022) a démontré un effet antibactérien important du camphre à la fois sur des isolats cliniques et des cultures standard. De plus, afin de vérifier l'effet de cette molécule en combinaison avec d'autres produits, Karaca et al. (2021) ont étudié l'effet antibactérien (in vitro) du camphre en combinaison avec l'HE d'un autre genre de *Lavandula* appelé *L. latifolia*, en suivant la méthode du damier sur des pathogènes humains (*L. monocytogenes* et *S. aureus*).

Les résultats ont démontré un effet synergique et additif de cette combinaison, suggérant ainsi la nécessité d'une étude plus approfondie des formulations pharmaceutiques à base de camphre.

En ce qui concerne la fenchone, Ahmad et al. (2022) ont réalisé une étude (*in vitro* et *in silico*) pour évaluer ses propriétés antibactériennes et anti-biofilm. *In silico*, les interactions entre ce monoterpène bicyclique et les protéines de *P. aeruginosa* (anthranilate-CoA ligase) et d'*E. coli* (β-ketoacyl acyl carrier protein synthase) ont été prédites. Cette prédiction a été validée *in vitro* contre ces 2 souches en déterminant les valeurs MIC et MBC. Par conséquent, les valeurs de CMIs contre *P. aeruginosa* et *E. coli* étaient respectivement de 266,6 ± 115 et 8,3 ± 3,6 mg/mL. Il est intéressant de noter que la fenchone (1000 µg/mL) a réduit la formation de biofilms par ces deux souches bactériennes (Ahmad et al., 2022).

Cependant, il est difficile d'attribuer l'activité d'un mélange complexe tel que l'HE à un composant unique ou particulier. En fait, il semble que les composants mineurs jouent un rôle essentiel dans l'activité antibactérienne, peut-être en produisant un effet synergique entre d'autres composants (Bakkali et al., 2008). La variation de la composition chimique de l'HE pourrait être responsable des différents effets antibactériens (Lu et al., 2006).

Les modes d'action antimicrobiens possibles des HEs peuvent impliquer la désintégration de la bicouche phospholipidique ou de la membrane externe des bactéries, la modification de la composition en acides gras, l'augmentation de la flexibilité de la membrane générant une fuite d'ions potassium et de protons, l'interférence avec l'absorption du glucose, et l'inhibition des enzymes ou la perturbation des cellules (Angane et al., 2022; Bakkali et al., 2008; Hammer et al., 1999). Il a été élucidé que les terpènes interfèrent avec les protéines membranaires et les phospholipides, provoquant une répression de la chaîne respiratoire cellulaire, une perturbation de la phosphorylation oxydative, une inhibition de la production d'acides nucléiques et un déficit en métabolites (Bassolé and Juliani, 2012; El Omari et al., 2022).

D'autres investigations ont supposé que la membrane cellulaire pouvait être une cible principale des composés bioactifs pour inactiver la cellule microbienne (Lopez-Romero et al., 2015). En effet, l'interférence entre les composés bioactifs et les bactéries rend la paroi cellulaire des bactéries à gram positif plus dense, ce qui entraîne la lyse de la cellule. D'autres composés peuvent interagir avec la couche externe chargée négativement de la souche à Gram négatif, simplifiant ainsi la pénétration du composé dans l'espace intracellulaire, ce qui entraîne une destruction de la cellule.

Cette étude devrait donc être complétée par d'autres investigations sur ces HEs, notamment pour évaluer leur efficacité contre les bactéries Gram négatifs résistantes aux antibiotiques. En outre, notre étude a montré que les HEs testées ont une activité antifongique prometteuse il est donc recommandé d'envisager leur utilisation dans d'éventuelles combinaisons ou formulations pour résoudre le problème croissant de la candidose. Étant donné la résistance croissante des espèces de *Candida* aux antifongiques conventionnels tels que les azoles et les échinocandines. Ce problème devient de plus en plus grave dans les milieux cliniques du monde entier (Pristov et Ghannoum, 2019).

3. Concentration minimale bactéricide (CMB) / fongicide (CMF)

Les résultats de CMB ont montré que les HEs de *M. suaveolens*, *L. stoechas* et *A. visnaga* possèdent un effet antimicrobien très intéressant contre toutes les souches microbiennes étudiées avec des valeurs de CMB qui varient entre 0,031 et 16 % (v/v) (tableau 12). Une sensibilité Gram-dépendante a été également notée, par conséquent, les bactéries gram positif (0,031% ≤ CMB ≤2%) ont été plus sensibles que les bactéries à gram négatif (0,5% ≤ CMB ≤16%).

Tableau 12. CMB (CMF) des HEs de *M. suaveolens*, *L. stoechas* et *A. visnaga*.

Microorganisms	**CMB (CMF) % (v/v)**		
	A. visnaga	***L. stoechas***	***M. suaveolens***
	HE	**HE**	**HE**
E. coli	8	1	8
P. aeruginosa	0,5	2	1
S. aureus	0,5	0,5	2
B. cereus	0,125	0,031	0,125
B. subtilis	0,125	0,031	0,125
M. luteus	0,125	0,25	0,125
S. enterica	1	2	1
K. pneumoniae	16	8	8
M. aurum	8	1	2
M. smegmatis	2	0,25	0,25
C. albicans	0,25	0,125	0,0625
C. tropicalis	0,5	0,5	1

Afin de comprendre le mécanisme antimicrobien des trois HEs étudiées, nous avons calculé les rapports CMB/CMI et CMF/CMI (tableau 13). L'HE est considérée comme bactéricide ou fongicide si le rapport entre la CMB/CMI et la CMF/CMI est inférieur ou égal à 4,0 ; pour lequel il est possible d'obtenir des concentrations de l'agent testé qui tuent 99,9 % des microorganismes traités. Si ces rapports sont supérieurs à 4,0, il peut s'avérer impossible de fournir des doses de l'agent testé suffisantes pour tuer 99,9 % des microorganismes, et l'agent est donc considéré comme bactériostatique ou fongistatique (Abdallah, 2011; Zambardi et al., 1997). En effet, dans notre étude, les valeurs CMB/CMI et CMF/CMI de toutes les souches microbiennes testées étaient inférieures de 4,0, à l'exception de *K. pneumoniae*, et *M. aurum* (pour l'HE d'*A. visnaga*) (CMB/CMI = 8), ce qui montre que les HEs testées ont des effets bactéricides et fongicides notables.

L'effet microbicide de l'HE de *L. stoechas* a déjà été rapporté dans la littérature. En effet, Cherrat et al. (2014) ont montré des effets bactéricides de cette HE contre *E. coli* O157:H7 et *L. monocytogenes*. Par ailleurs, Bouyahya et al. (2017) ont également montré un effet bactéricide de l'HE de *L. stoechas* vis-à-vis *S. aureus* MBLA 0.5, *S. aureus* 976, *L. monocytogenes*, *B. subtilis* ATCC 6633, *Proteus mirabilis* et *E. coli* K12.

De plus, l'HE de *L. stoechas* était plus active contre *Cryptococcus neoformans* et des souches dermatophytes, avec un effet fongicide contre *Epidermophyton floccosum* *Mentagrophytes var. interdigitale*, *Trichophyton rubrum* CECT 2794 *Aspergillus fumigatus* ATCC 46645 et *Aspergillus niger* ATCC 16404 (valeurs de CMI équivalentes à celles de la CMB) (Zuzarte et al., 2013).

En fait, l'activité antifongique de cette HE serait probablement due à l'activité de composés mineurs ou liée à un effet synergique entre différents composés présents dans l'huile, étant donné que les principaux composés testés seuls ont montré une faible activité antifongique (Bassolé and Juliani, 2012; Kordali et al., 2005; Li et al., 2022; Mokbel and Alharbi, 2015).

L'HE de *M. suaveolens* a été bactéricide contre les bactéries à gram positif et les bactéries à gram négatif testées. Ce qui concorde avec les résultats d'une étude préalable qui a rapporté des rapports CMB/CMI pour cette HE compris entre 1 et 2 vis-à-vis *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae* et *P. mirabilis* (Al-Mijalli et al., 2022). Cependant, l'HE d'*A. visnaga* a été affirmée comme un agent à effet bactériostatique plus qu'un agent fongistatique (Feirouz et Salima, 2014).

Tableau 13. Effet bactéricide-fongicide/bactériostatique-fongistatique des HEs étudiées.

Microorganisms	*A. visnaga*		*L. stoechas*		*M. suaveolens*	
	HE		HE		HE	
	CMB (CMF)/CMI	Effet	CMB (CMF)/CMI	Effet	CMB (CMF)/CMI	Effet
E. coli	2	Bactéricide	1	Bactéricide	1	Bactéricide
P. aeruginosa	2	Bactéricide	4	Bactéricide	2	Bactéricide
S. aureus	1	Bactéricide	1	Bactéricide	2	Bactéricide
B. cereus	1	Bactéricide	1	Bactéricide	1	Bactéricide
B. subtilis	1	Bactéricide	2	Bactéricide	2	Bactéricide
M. luteus	1	Bactéricide	1	Bactéricide	2	Bactéricide
S. enterica	1	Bactéricide	1	Bactéricide	4	Bactéricide
K. pneumoniae	8	Bactériostatique	8	Bactériostatique	8	Bactériostatique
M. aurum	8	Bactériostatique	4	Bactéricide	4	Bactéricide
M. smegmatis	4	Bactéricide	2	Bactéricide	1	Bactéricide
C. albicans	2	Fongicide	1	Fongicide	1	Fongicide
C. tropicalis	2	Fongicide	1	Fongicide	2	Fongicide

III. Optimisation de l'effet antibactérien par la conception de mélanges

1. Conception de formulations antibactériennes

Le plan de mélange contient différentes combinaisons des trois HEs étudiées, à savoir les HEs de *M. suaveolens*, *L. stoechas* et *A. visnaga*, ainsi que les résultats de chaque essai sur *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Les douze essais ont été réalisés après randomisation et chacune de ces réponses a été effectuée en trois répétitions (tableau 14).

Tableau 14. Différentes combinaisons sélectionnées par le plan de mélange et la réponse observée pour chaque expérience.

Nombre d'expériences [a]	*Mentha suaveolens*	*A. visnaga*	*L. stoechas*	CMI %(v/v) [b]		
				S. aureus	*P. aeruginosa*	*E. coli*
1	1	0	0	1	0,5	8
2	0	1	0	0,5	0,25	4
3	0	0	1	0,5	0,25	1
4	0,5	0,5	0	0,125	0,125	2
5	0,5	0	0,5	0.25	0,062	1
6	0	0,5	0,5	0,125	0,031	1
7	0,333	0,333	0,333	0,125	0,25	0,5
8	0,333	0,333	0,333	0,125	0,25	0,5
9	0,333	0,333	0,333	0,125	0,25	0,5
10	0,667	0,167	0,167	0,125	0,25	1
11	0,167	0,667	0,167	0,125	0,125	0,5
12	0,167	0,167	0,667	0,062	0,062	0,5

[a] Les essais ont été réalisés après randomisation. [b] Chaque réponse est la moyenne de trois répétitions.

2. Validation statistique du modèle postulé

Les données expérimentales relatives à la réponse de chaque souche bactérienne ont été examinées statistiquement pour vérifier le modèle cubique spécial sélectionné, illustrant la corrélation entre les réponses et les facteurs.

2.1 *Escherichia coli*

Selon l'analyse de variance présentée dans le tableau 15, l'impact principal de la régression est statistiquement significatif pour *E. coli* testée puisque leur risque de significativité (*p-value*) est inférieur à 0,05 (0,0008*). Le rapport F (R/r) est égal à 31,37 et la signification du modèle postulé a été vérifiée par le coefficient de détermination (R^2). Ce dernier était de 0,96 pour *E. coli*.
Ces analyses ont révélé une excellente concordance entre les valeurs prédites et observées du modèle ajusté. Les résultats ont été validés par le graphique de la figure 20, qui présente une courbe linéaire des valeurs observées par rapport aux valeurs prévues.

Tableau 15. Analyse de la variance du modèle postulé pour le mélange testé sur *E. coli*.

Modèle	**Degrés de liberté**	**Somme des carrés**	**Carré des moyennes**	**Rapport F**	***p*-value**
Régression (R)	6	50,8778	8,4796	31,3748	0,0008*
Résidus (r)	5	1,3513	0,2702		
Total	11	52,2291			
Coefficient de détermination (R^2)				**0,96**	

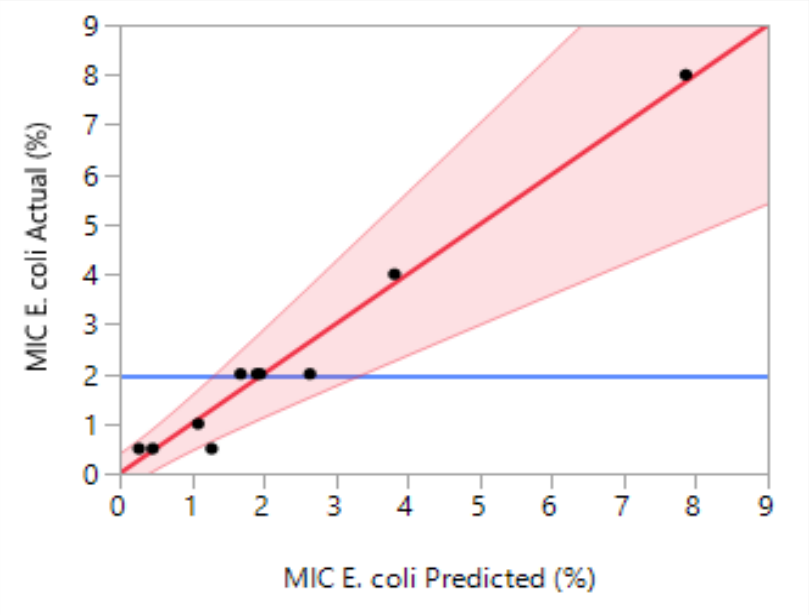


Figure 20. Courbe des valeurs de CMI observées en fonction des valeurs de CMI prévues correspondant à la souche *E. coli*. Avec MIC : CMI.

2.2 *Staphylococcus aureus*

L'analyse de la variance a montré que l'effet principal de la régression est significatif puisque la probabilité de la signification du risque *p-value* est inférieure à 0,05. Le rapport F (R/r) est égal à 12,56 et le coefficient de détermination (R^2) est égal à 0,94 (tableau 16).

Ces analyses ont révélé une excellente concordance entre les valeurs prédites et observées du modèle ajusté. Les résultats ont été validés par le graphique de la figure 21, qui présente une courbe linéaire des valeurs observées par rapport aux valeurs prévues.

Tableau 16. Analyse de la variance du modèle postulé pour le mélange testé sur *S. aureus*.

Modèle	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré des moyennes	Rapport F	p-value
Régression (R)	6	0,7777	0,1296	12,5610	0,0069*
Résidus (r)	5	0,0515	0,0103		
Total	11	0,8293			
Coefficient de détermination (R^2)			**0,94**		

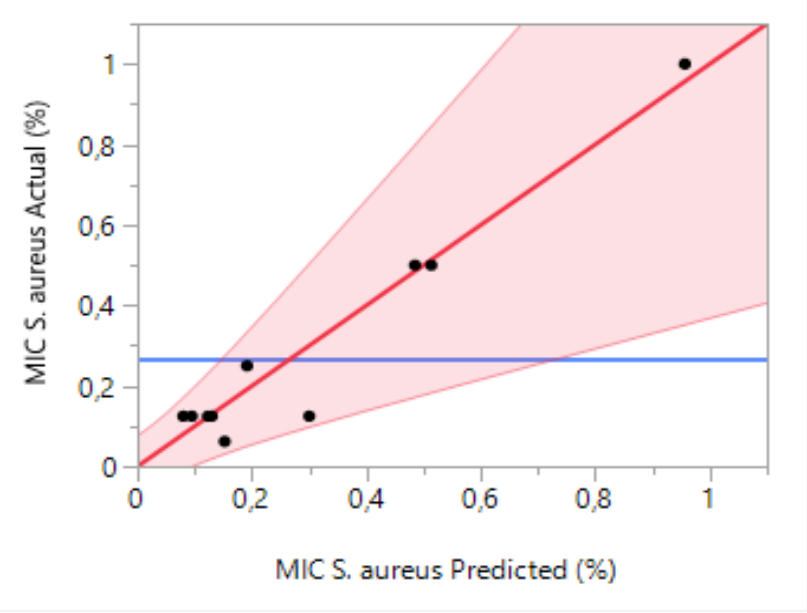


Figure 21. Courbe des valeurs de CMI observées en fonction des valeurs de CMI prévues correspondant à la souche *S. aureus*. Avec MIC : CMI.

2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

L'analyse de la variance présentée dans le tableau 17 révèle que l'effet principal de la régression est significatif puisque la probabilité de la signification du risque *p-value* est inférieure à 0,05. Le rapport F (R/r) et le coefficient de détermination (R^2) ont indiqué des valeurs de 14,77 et 0,95 pour *P. aeruginosa*, respectivement.

Ces analyses ont témoigné d'une excellente concordance entre les valeurs prédites et observées du modèle ajusté. Les résultats ont été validés par le graphique de la figure 22, qui présente une courbe linéaire des valeurs observées par rapport aux valeurs prévues.

Tableau 17. Analyse de la variance du modèle postulé pour le mélange testé sur *P. aeruginosa*.

Modèle	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré des moyennes	Rapport F	p-value
Régression (R)	6	0,1731	0,0288	14,7782	0,0048*
Résidus (r)	5	0,0097	0,0019		
Total	11	0,1828			
Coefficient de détermination (R^2)				**0,95**	

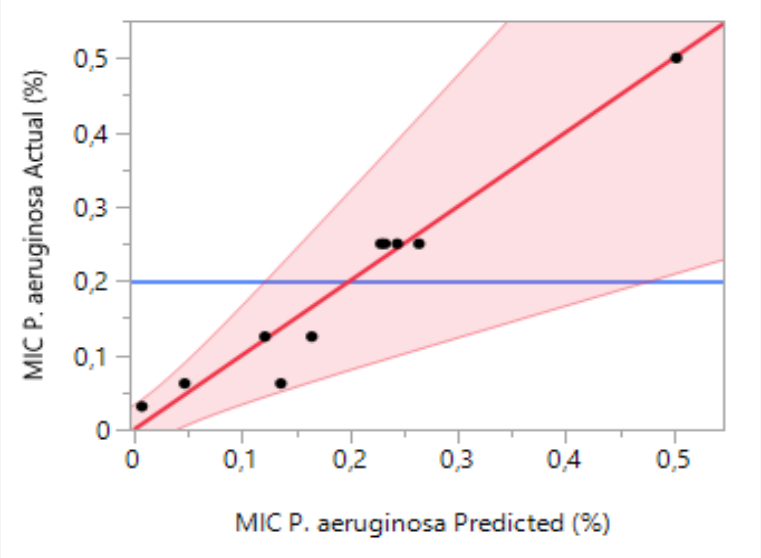


Figure 22. Courbe des valeurs de CMI observées en fonction des valeurs de CMI prévues correspondant à la souche *P. aeruginosa*. Avec MIC : CMI.

3. Effets des facteurs

3.1 *Escherichia coli*

Le tableau 18 présente les impacts de toutes les variables indépendantes examinées (facteurs étudiés), ainsi que les valeurs statistiques du test *t-student* et la probabilité observée (*p-value*).

Les coefficients du modèle ont été considérés comme statistiquement significatifs lorsque leur valeur *p-value* était inférieure à 0,05, et ceux dont la valeur était supérieure à 0,05 n'ont pas été pris en compte dans l'analyse. L'analyse de résultats de la réponse de la $CMI_{E.\ coli}$ a montré que les coefficients statistiquement significatifs sont ceux relatifs aux termes linéaires σ 1, σ 2, aux termes d'interaction binaire σ 12, σ13 et au terme ternaire σ123.

Il ressort de ces résultats que l'action antibactérienne contre la souche *E. coli* dépend uniquement de l'impact direct des huiles de *M. suaveolens* et d'*A. visnaga*, et de l'interaction binaire entre l'HE *M. suaveolens* * l'HE d'*A. visnaga* et l'HE *M. suaveolens* * l'HE *L. stoechas* ainsi que de l'interaction des trois huiles.

Tableau 18. Effets des coefficients du modèle qui relient la réponse aux facteurs contre *E. coli*.

Terme (HEs)	Coefficient	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.>|t|
M. suaveolens	σ_1	7,8627291	0,502083	15,66	<0,0001*
A. visnaga	σ_2	3,8172742	0,502083	7,60	0,0006*
L. stoechas	σ_3	1,0900009	0,502083	2,17	0,0820
*M. suaveolens** *A. visnaga*	σ_{12}	-16,64	2,528262	-6,58	0,0012*
*M. suaveolens *L. stoechas*	σ_{13}	-10,09454	2,528262	-3,99	0,0104*
*A. visnaga * L. stoechas*	σ_{23}	-2,185452	2,528262	-0,86	0,4269
*M. suaveolens** *A. visnaga *L. stoechas*	σ_{123}	7,0063245	1,168974	5,99	0,0019*

*Statistiquement significatif à $p < 0,05$.

Par conséquent, le modèle ajusté exprimant la réponse étudiée en fonction des facteurs significatifs est représenté par l'équation ci-dessous :

$$Y = 7{,}86S_1 + 3{,}81S_2 - 16{,}65S_1S_2 - 10{,}09S_1S_3 + \varepsilon$$

3.2 *Staphylococcus aureus*

Le tableau 19 présente les impacts de tous les facteurs étudiés, ainsi que les valeurs statistiques du test *t-student* et la probabilité observée (*p-value*).

Les termes statistiquement significatifs sont ceux qui illustrent l'impact des constituants purs (σ 1, σ 2 et σ 3) et les termes d'interaction binaires : σ 12, σ 13 et σ 23. Les données obtenues indiquent que l'efficacité antibactérienne du mélange étudié contre la souche *S. aureus* dépend de tous les termes, à l'exception de ceux représentant l'interaction entre les trois HEs examinées (σ 123).

Tableau 19. Effets des coefficients du modèle qui relient la réponse aux facteurs contre *S. aureus*.

Terme (HEs)	Coefficient	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.>|t|
M. suaveolens	σ_1	0,9566166	0,098107	9,75	0,0002*
A. visnaga	σ_2	0,5134347	0,098107	5,23	0,0034*
L. stoechas	σ_3	0,4848893	0,098107	4,94	0,0043*
M. suaveolens A. visnaga*	σ_{12}	-2,559889	0,49402	5,18	0,0035*
*M. suaveolens *L. stoechas*	σ_{13}	-2,116989	0,49402	4,29	0,0078*
*A. visnaga * L. stoechas*	σ_{23}	-1,503352	0,49402	3,04	0,0286*
M. suaveolens A. visnaga *L. stoechas*	σ_{123}	3,1046201	2,68733	1,16	0,3002

*Statistiquement significatif à $p<0,05$.

Par conséquent, le modèle ajusté représente la réponse étudiée en termes de trois composantes décrites par l'équation suivante :

$$Y = 0{,}96S_1 + 0{,}51S_2 + 0{,}48S_3 - 2{,}56S_1S_2 - 2{,}12S_1S_3 - 1{,}5S_2S_3 + \varepsilon$$

3.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Le tableau 20 présente les impacts de tous les facteurs étudiés, ainsi que les valeurs statistiques du test *t-student* et la probabilité observée (*p-value*) relativement à *P. aeruginosa.*

Tableau 20. Effets des coefficients du modèle qui relient la réponse aux facteurs contre *P. aeruginosa*

Terme (HEs)	Coefficient	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.>|t|
M. suaveolens	σ_1	0,5024218	0,042676	11,77	<0,0001*
A. visnaga	σ_2	0,2438764	0,042676	5,71	0,0023*
L. stoechas	σ_3	0,2324218	0,042676	5,45	0,0028*
M. suaveolens A. visnaga*	σ_{12}	-1,007404	0,214896	-4,69	0,0054*
*M. suaveolens *L. stoechas*	σ_{13}	-1,282313	0,214896	-5,97	0,0019*
*A. visnaga * L. stoechas*	σ_{23}	-0,923404	0,214896	-4,30	0,0077*
M. suaveolens A. visnaga *L. stoechas*	σ_{123}	7,0063245	1,168974	5,99	0,0019*

*Statistiquement significatif à p<0,05.

D'après le tableau 20, tous les termes du modèle mathématique ajusté étaient statistiquement significatifs, ce qui indique que l'effet antibactérien contre cette souche bactérienne repose sur toutes les interactions entre les HEs étudiées.

Ainsi, le modèle mathématique postulé exprimant la réponse a été conçu par l'équation suivante :

$$Y = 0{,}5S_1 + 0{,}24S_2 + 0{,}23S_3 - 1{,}01S_1S_2 - 1{,}28S_1S_3 - 0{,}92S_2S_3 + 7{,}01S_1S_2S_3 + \varepsilon$$

4. Optimisation de la formulation et étude de désirabilité

L'optimisation employant l'approche de la conception du mélange implique la recherche de l'ajustement optimal des variables, conduisant à de meilleurs résultats par rapport à ceux fournis par les trois composants purs. Étant donné que les modèles statistiquement vérifiés sont également prédictifs, ces réponses optimales peuvent ne pas correspondre à celles observées dans les douze expériences réalisées.

Toutefois, elles peuvent être prédites avec précision dans le champ expérimental étudié. Il convient de noter que les mélanges des HEs ont donné de meilleurs résultats que ceux obtenus avec des huiles individuelles. Par conséquent, l'application d'un modèle de conception de mélange s'est avérée efficace (Fadil et al., 2022).

Afin d'estimer la valeur optimale de la CMI qui peut être atteinte, la meilleure valeur obtenue au cours de l'exécution des expériences a été utilisée comme point de départ. Ainsi, les meilleures valeurs de CMI enregistrées étaient de 0,062 %, 0,031 % et 0,5 % pour *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*, respectivement. Par conséquent, une formulation des HEs qui fournit des réponses inférieures ou égales à ces valeurs sera acceptée.

4.1 Profil du mélange

Cette étude démontre que l'activité antibactérienne du mélange optimal prédit contre les souches étudiées était meilleure que celle des HEs pures. Les graphiques en courbes de niveau et la surface 3D (figure 23, figure 25, figure 27) illustrent la combinaison optimale des trois HEs étudiées conduisant à la minimisation des trois réponses. Ces graphiques révèlent les interactions entre chaque variable indépendante (proportions des composants étudiés) dans le mélange. La région bleue foncé indique des valeurs de CMI plus faibles et une efficacité bactérienne plus élevée, tandis que la couleur verte à rouge indique des valeurs de CMI modérées à élevées. Par conséquent, la méthodologie de conception des mélanges a permis d'optimiser les proportions des trois HEs étudiées dans un mélange, afin de développer la combinaison optimale responsable du meilleur effet antibactérien.

4.1.1 Pouvoir de la formulation des HEs contre *S. aureus*

Les courbes de niveau et de surface (figure 23) illustrent la réponse de la CMI contre *S. aureus* obtenue en utilisant diverses proportions des trois huiles testées. Les valeurs de CMI $_{S.\ aureus}$ obtenues dans les différentes expériences varient entre 0,062 et 1% (tableau 14). La représentation graphique des mélanges en 3D et 2D montre que cette réponse nécessite un mélange de trois HEs : *M. suaveolens*, *A. visnaga* et *L. stoechas* pour obtenir une valeur d'environ 0,075 %. En outre, la fonction de désirabilité (figure 24) confirme ce résultat et révèle la possibilité d'obtenir une CMI de 0,07 % avec une désirabilité de 99,9 % en réalisant un mélange optimal comprenant 27 % de l'HE de *M. suaveolens*, 43 % l'HE d'*A. visnaga* et 30 % de l'HE de *L. stoechas*.

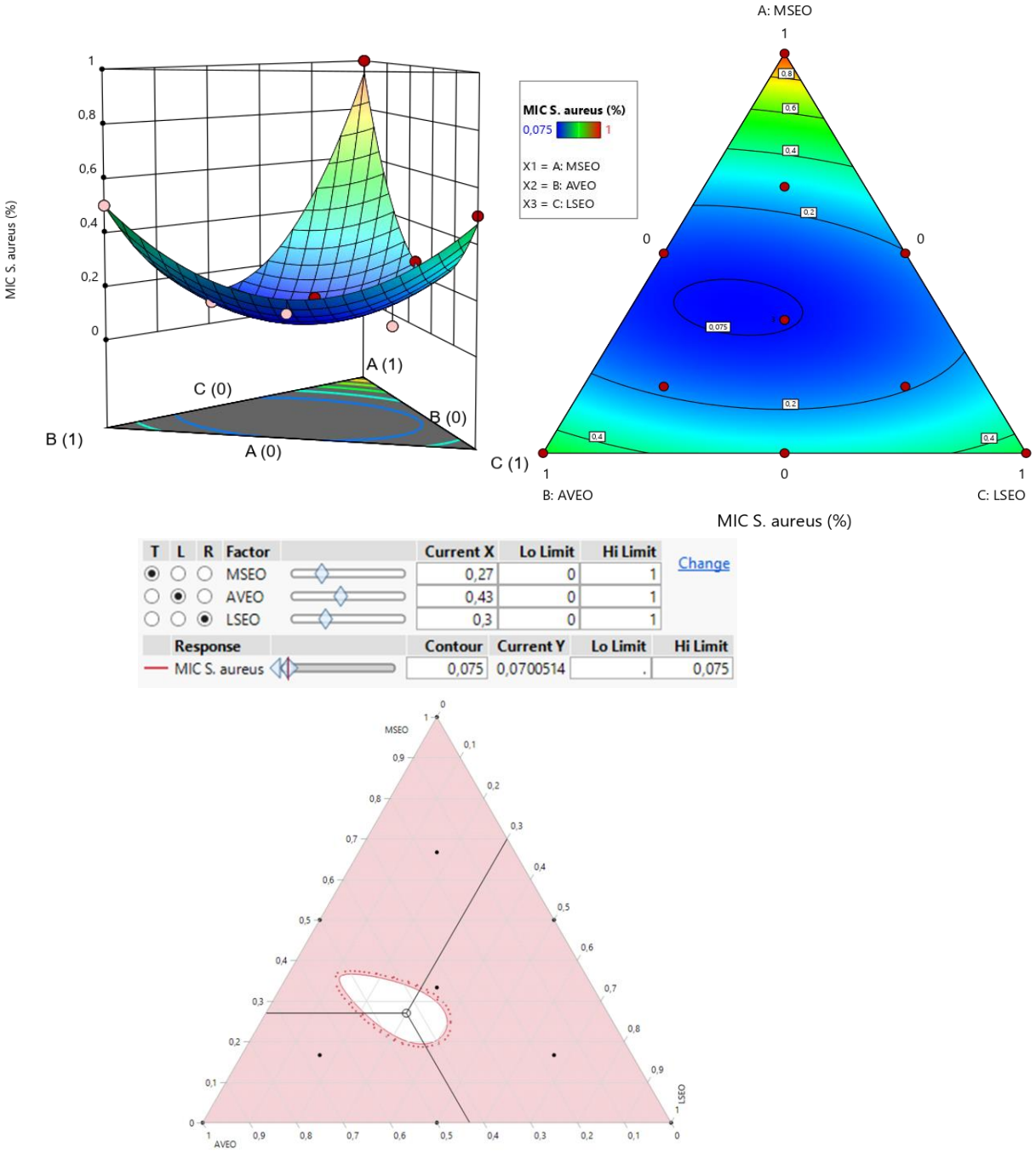


Figure 23. Diagrammes de mélange 2D et 3D présentant des variations de la CMI contre *S. aureus*.

Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE *d'A. visnaga.*

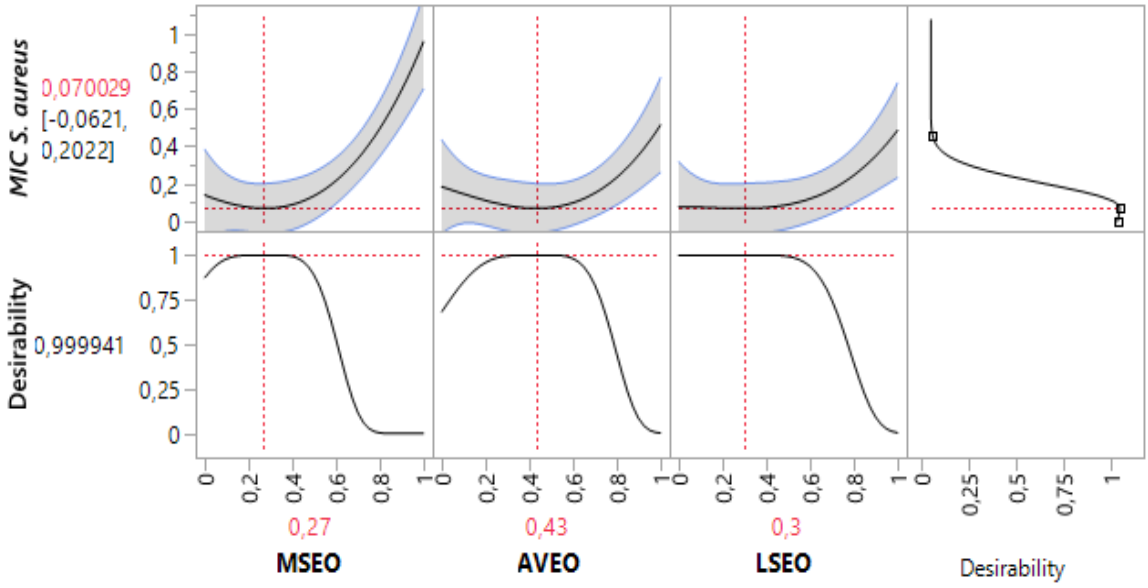


Figure 24. Profil de désirabilité des proportions optimales relatives à l'activité antibactérienne du mélange vis-à-vis *S. aureus*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*.

4.1.2 Pouvoir de la formulation des HEs contre *P. aeruginosa*

Comme le montre le tableau 1, la réponse à la CMI de *P. aeruginosa* varie de 0,031 à 0,5 % (tableau 14). D'après les courbes de niveau et de surface (figure 25), on peut déduire que l'obtention d'une CMI de 0,02 % nécessite un mélange binaire composé de l'HE d'*A. visnaga* et l'HE de *L. stoechas*. Par conséquent, l'HE de *M. suaveolens* doit être fixée à son pourcentage le plus bas (0 %). En outre, la fonction de désirabilité (figure 26) suggère qu'il y a 99,7 % de chances d'atteindre la meilleure valeur de CMI (0,007 %) en assurant un mélange binaire composé principalement de 50 % de l'HE d'*A. visnaga* et de 50 % de l'HE de *L. stoechas*.

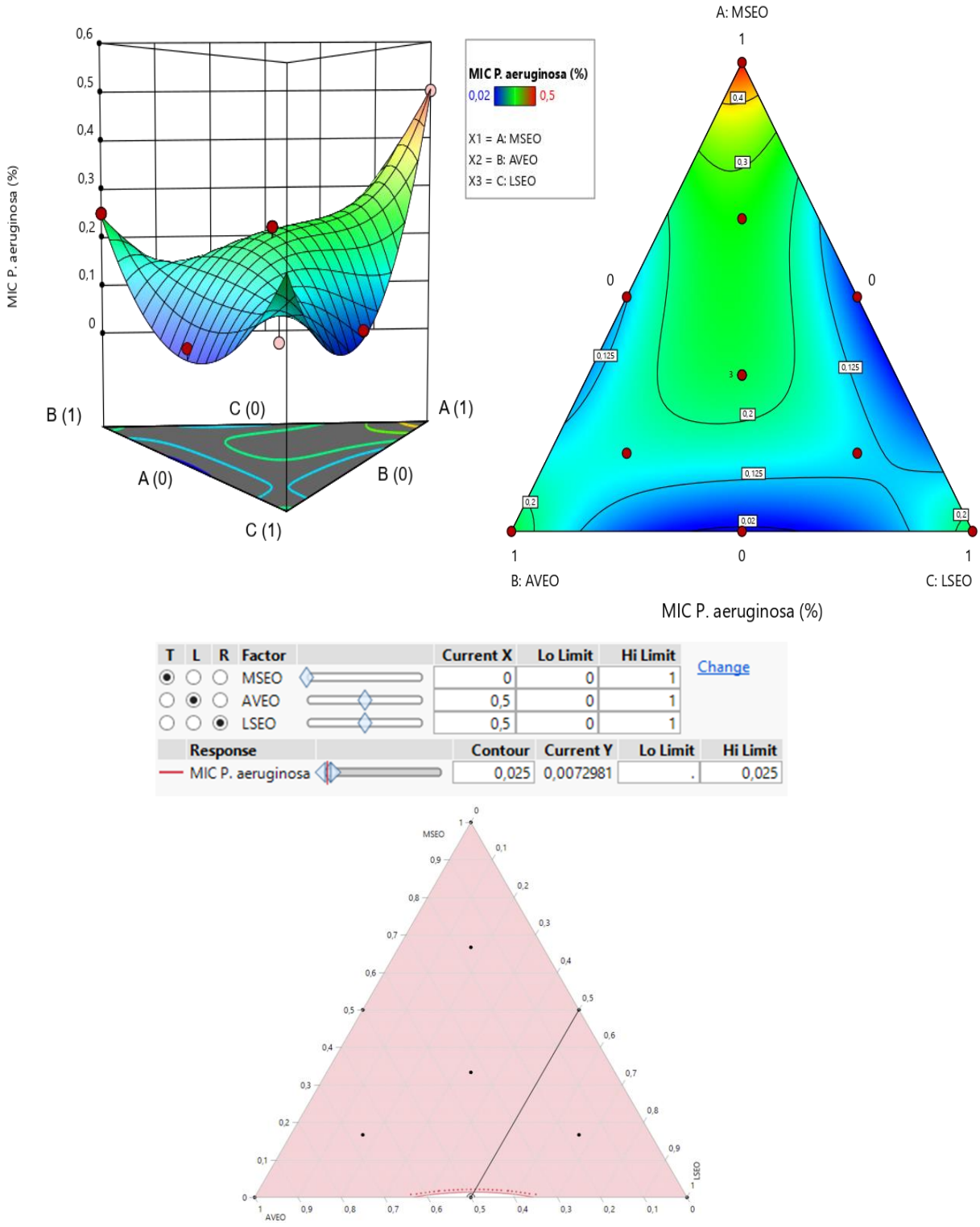


Figure 25. Diagrammes de mélange 2D et 3D présentant des variations de la CMI contre *P. aeruginosa*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*.

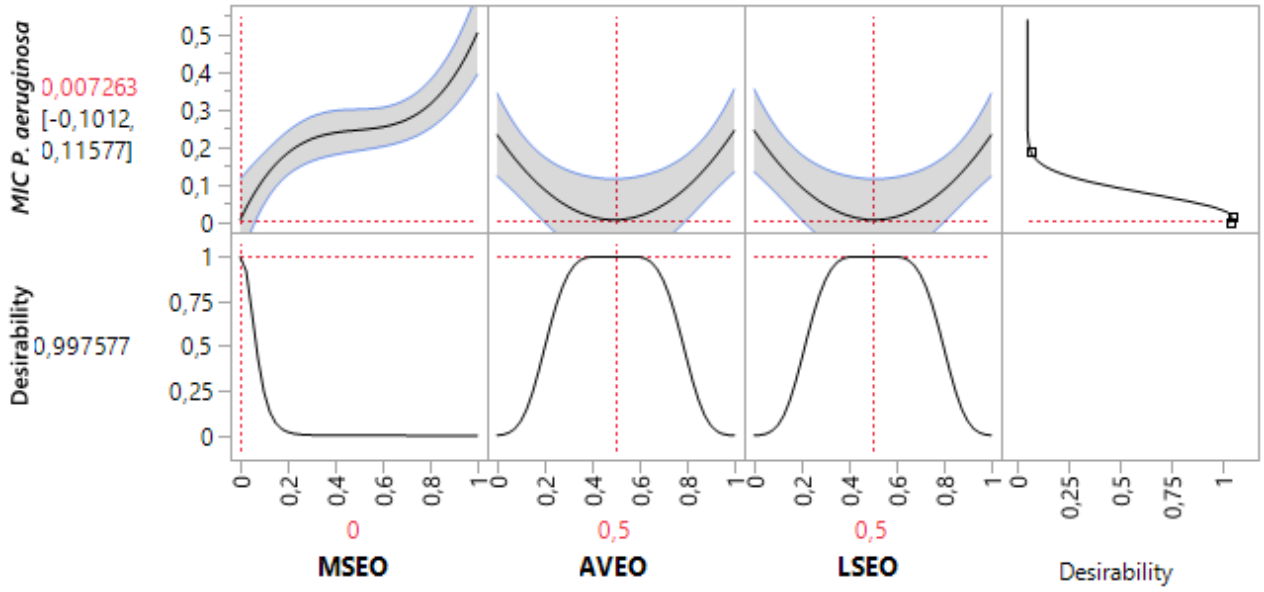


Figure 26. Profil de désirabilité des proportions optimales relatives à l'activité antibactérienne du mélange vis-à-vis *P. aeruginosa*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*.

4.1.3 Pouvoir de la formulation des HEs contre *E. coli*

Les résultats rapportés pour la réponse CMI *E. coli* varient de 0,5 à 8 % (tableau 14). Les illustrations du diagramme de mélange 3D et 2D (figure 27) ont révélé que la zone de compromis correspondant à la CMI souhaitée autour d'une valeur de 0,5 % nécessite un mélange composé des HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga* et *L. stoechas*. En outre, le test de désirabilité (figure 28) a confirmé que la meilleure valeur possible pour la réponse de la CMI *E. coli* est égale à 0,2 %. Cette valeur peut être atteinte avec un pourcentage de compromis de 99,8 % en mélangeant des HEs avec des proportions de 28 % pour l'HE de *M. suaveolens*, 30 % pour l'HE d'*A. visnaga* et 42 % pour l'HE de *L. stoechas*.

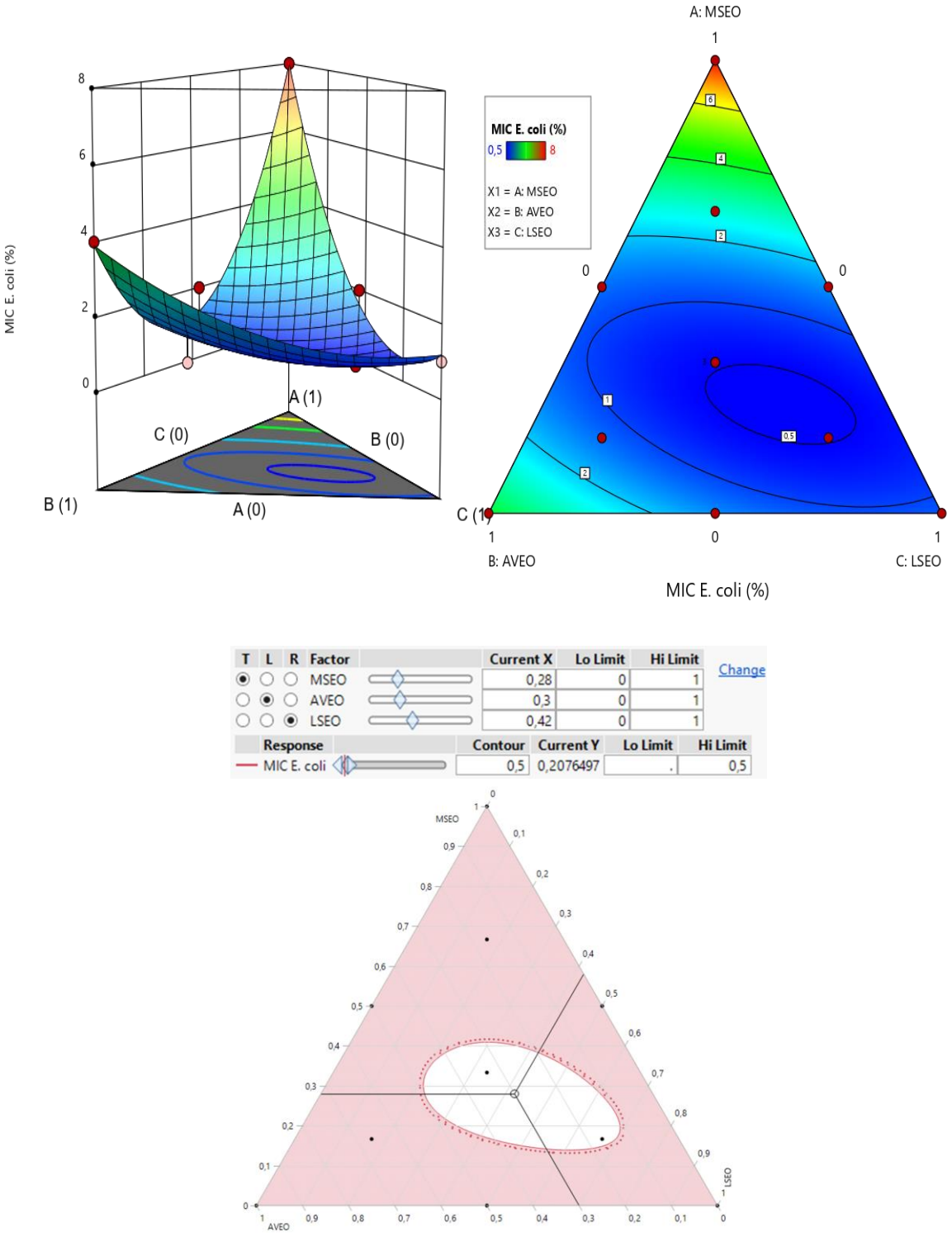


Figure 27. Diagrammes de mélange 2D et 3D présentant des variations de la CMI contre *E. coli*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*.

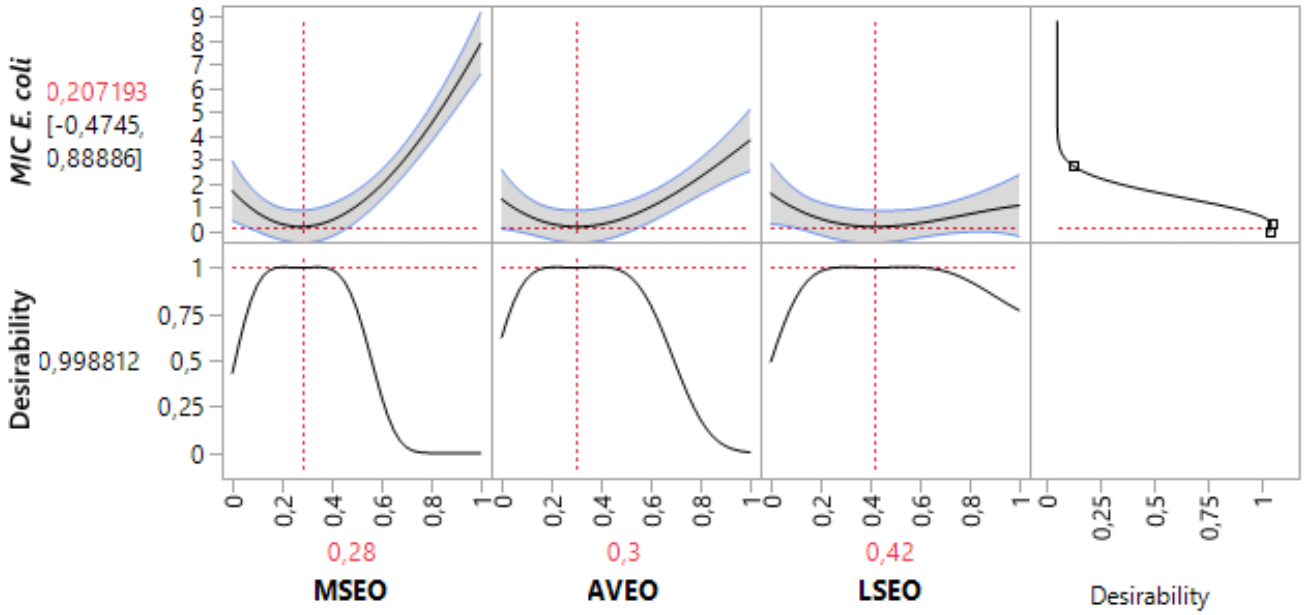


Figure 28. Profil de désirabilité des proportions optimales relatives à l'activité antibactérienne du mélange vis-à-vis *E. coli*. Avec MIC : CMI, MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*.

4.2 Effet synergique entre les HEs

Les résultats de l'optimisation simultanée sont plus visibles dans les courbes de niveau des réponses de *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*, produites par les HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga* et *L. stoechas*. Dans cette étude, il est important de souligner que les formulations optimales ont présenté une activité antibactérienne supérieure à celle des HEs pures. Ce qui confirme la performance de la formule obtenue. En effet, la zone de compromis souhaitée entre les proportions des échantillons pour trouver la CMI désirée nécessite un mélange contenant principalement des HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga* et *L. stoechas* pour *S. aureus* et *E. coli*. En revanche, un mélange binaire des HEs de *L. stoechas* et d'*A. visnaga* est nécessaire pour atteindre la CMI désirée contre *P. aeruginosa* (figure 29).

Réponse	Contour
CMI *E. coli*	0,5
CMI *S. aureus*	0,075
CMI *P. aeruginosa*	0,02

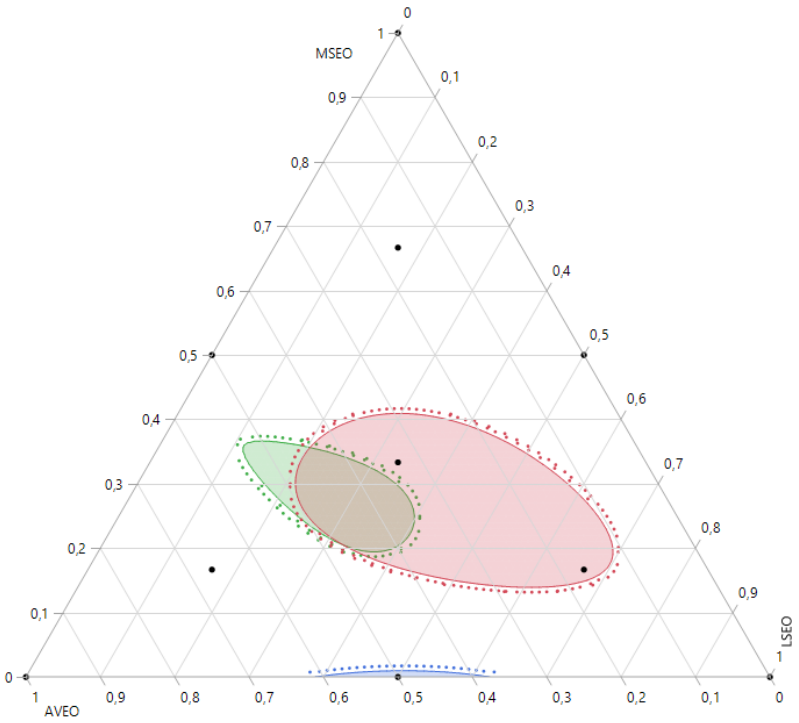


Figure 29. Profil de mélange obtenu testé sur *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli* simultanément. Avec MSEO : HE de *M. suaveolens*, LSEO : HE de *L. stoechas* et AVEO : HE d'*A. visnaga*.

Le mélange des composants étudiés contient des formulations optimales rassemblant en particulier deux classes majeures, dont les monoterpènes oxygénés (l'oxyde de pipéritenone, le camphre, le linalol, le 1,8-cinéole et la fenchone), et les hydrocarbures monoterpéniques (le β-ocimène, le D-limonène et le camphène). Ces composés bioactifs ont différents sites d'action dans la cellule bactérienne (Hyldgaard et al., 2012).

Les monoterpènes hydrocarbonés présentent des propriétés antibactériennes plus faibles que les terpénoïdes oxygénés, qui contiennent des groupes hydroxyles (-OH) (Hashemi et Jafarpour, 2020 ; Mahmud et al., 2023). En outre, Burt (2004) a déduit que l'effet synergique ou additif entre les HEs peut être attribué aux interactions entre les composants mineurs et majeurs.

De même, l'effet synergique entre les HEs testées pourrait s'expliquer par une synergie entre la fenchone, l'oxyde de pipéritenone et le linalol, qui sont les composés majeurs respectifs des HEs de *M. suaveolens*, *L. stoechas* et l'*A. visnaga*, et les hydrocarbures terpéniques, tels que le β-ocimène, le D-limonène et le camphène. En fait, ces molécules peuvent agir à l'intérieur de la membrane cellulaire bactérienne en facilitant la pénétration de la fenchone, de l'oxyde de pipéritenone et du linalol dans le cytoplasme et en entraînant la mort des cellules bactériennes.

Dans la littérature, plusieurs études ont exploré l'effet antibactérien synergique des HEs dérivées de différentes plantes et de leurs composants individuels (Bassolé et al., 2010; Bassolé and Juliani, 2012; Boren et al., 2020; Hashemi and Jafarpour, 2020; Kachkoul et al., 2021). Kachkoul et al. (2021) ont rapporté l'activité synergique des HEs de *Rosmarinus officinalis* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. et *Mentha pulegium* L. contre les bactéries impliquées dans l'infection lithiasique. De plus, Vuuren et Viljoen (2007) ont montré une forte activité synergique des combinaisons 1,8-cinéole/limonène contre *S. aureus* et *P. aeruginosa*. De même, Bassole et al. (2010) ont confirmé les effets synergiques des combinaisons linalol/eugénol et linalol/carvacrol contre *Enterobacter aerogenes* et *L. monocytogenes*, respectivement. En outre, les mélanges du limonène/α-pinène, linalol/α-pinène, terpinen-4-ol/linalol, eugénol/linalol, limonène/1,8-cinéole, 1,8-cinéole/aromadrène, et camphre/linalol ont été signalés comme présentant des actions antibactériennes synergiques (Bassolé et al., 2010; Bassolé and Juliani, 2012; Karaca et al., 2021; Mulyaningsih et al., 2010; Tserennadmid et al., 2011).

Nos résultats ont confirmé qu'une thérapie antibactérienne naturelle combinée permet de contrôler efficacement les bactéries responsables de l'altération et la détérioration des aliments. Néanmoins, à notre connaissance, aucune étude antérieure n'a démontré l'activité synergique de l'oxyde de pipéritenone, du fenchone et du linalol sur *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*.

En effet, la formulation développée dans cette étude peut être utilisé comme alternative aux antibiotiques conventionnels, qui deviennent de plus en plus inefficaces contre certaines souches résistantes responsables de pathologies graves en médecine et de la détérioration de la qualité nutritionnelle dans l'industrie alimentaire. Nos résultats peuvent également être extrapolés à la combinaison d'autres HEs qui ont montré une activité antimicrobienne intéressante contre d'autres souches microbiennes résistantes grâce à l'utilisation de la conception de mélanges comme outil d'optimisation puissant.

IV. Activité antibiofilm / antiadhésive

1. Effet des HEs et leurs mélanges optimaux sur les propriétés physicochimiques du matériau étudié

L'évaluation des propriétés physicochimiques des surfaces traitées et non traitées de l'acier inoxydable 304L a été réalisée par la méthode de la goutte sessile. Sur la base des approches de Vogler (1998) et de Van Oss et al. (1995), l'hydrophobie a été évaluée qualitativement et quantitativement.

Le tableau 21 indique les angles de contact et les paramètres d'énergie de surface des coupons avant et après l'ajout des HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens* et *A. visnaga* et de leurs mélanges optimaux 1 et 2 (MO1 et MO2). Avant les traitements, le matériau en acier inoxydable était qualitativement hydrophobe ($\theta w > 65°$) et quantitativement hydrophile ($\Delta Giwi > 0$).

Après traitement, les composantes de l'angle de contact avec l'eau ont diminué pour atteindre des valeurs comprises entre 11,6 ± 0,2° et 60 ± 0,31°. Parallèlement, les valeurs ΔGiwi de la surface traitée par l'HE de *A. visnaga* et de mélange optimal 2 (composé de 50 % de l'HE d'*A. visnaga* et de 50 % de l'HE de *L. stoechas*) ont été réduites à -21,11 et -40,81 6 mJ/m^2, respectivement, tandis que le traitement par les HEs de *L. stoechas* et *M. suaveolens* et MO1 (composé de 27 % de l'HE de *M. suaveolens*, 43 % de l'HE d'*A. visnaga* et 30 % de l'HE de *L. stoechas*) a amélioré le paramètre ΔGiwi avec des valeurs variant de 28,9 à 52,6 mJ/m^2.

Tableau 21. Valeurs de l'angle de contact, paramètres d'énergie des surfaces non traitées et traitées des coupons en acier inoxydable 304L.

Substrat	Angles de contact (°)			Paramètres d'énergie des surfaces (mJ / m^2)					
	θ_W	θ_F	θ_D	γ^{LW}	γ^+	γ^-	γ^{AB}	γ^{tot}	Δ_{Giwi}
Surface non traitée	67 ± 0,15	26,6 ± 0,1	49,9 ± 0,37	36,14 ± 0,2	0,26 ± 0,02	43,71 ± 0,27	10,6	44,9	24,70
Surface traitée par HELS	20,9 ± 0,7	22,7 ± 0,12	52,0 ± 0,05	33,10 ± 0,03	2,09 ± 0,02	52,15 ± 0,55	20,4	53,6	28,90
Surface traitée par HEAV	60 ± 0,31	24,5 ± 0,2	54,5 ± 1	31,70 ± 0,57	6,13 ± 0,34	10,12 ± 0,36	15,5	47,2	-21,11
Surface traitée par HEMS	13 ± 0,2	10,1 ± 0,47	21,8 ± 0,06	47,14 ± 0,02	0,37 ± 0,01	53,69 ± 0,08	8,4	55,6	30,71
Surface traitée par MO1 (*S. aureus*)	11,6 ± 0,2	31,1 ± 0,49	35,9 ± 0,32	41,50 ± 0,15	0,06 ± 0,008	65,91 ± 0,51	3,4	45	52,60
Surface traitée par MO2 (*P. aeruginosa*)	60 ± 0,26	18,4 ± 0,51	14,6 ± 0,05	49,06 ± 0,01	1,76 ± 0,07	9,28 ± 0,33	7,8	57	-40,81

Les données sont présentées sous forme de moyennes ±SD (n=3). θw : angle de contact avec l'eau. θF : angle de contact avec le formamide. θD : angle de contact avec le diiodométhane. γ LW : composante de Lifshitz-van der Waals. γ- : paramètre du donneur d'électrons. γ + : paramètre accepteur d'électrons. ΔGiwi : énergie libre d'interaction. Avec HEAV : l'HE d'*A visnaga*, HEMS : l'HE de *M. suaveolens* et HELS : l'HE de *L. stoechas*.

Ces variations révèlent une altération significative de l'hydrophobicité des surfaces des matériaux qui sont devenues qualitativement hydrophiles et quantitativement hydrophobes dans le cas du traitement par l'HE d'*A. visnaga* et le mélange optimal 2. En outre, les données montrent que le composant accepteur d'électrons de la surface du matériau traité a légèrement augmenté, à l'exception du coupon complété par le mélange optimal 1 ($\gamma+= 0,06 \pm 0,008$ mJ/m^2), tandis que le paramètre donneur d'électrons a considérablement augmenté lorsqu'il a été traité par l'HE de *L. stoechas*, l'HE de *M. suaveolens* et le mélange optimal 1.

En outre, les traitements par l'HE d*'A visnaga* et le mélange optimal 2 ont réduit le paramètre du donneur d'électron avec des valeurs respectives de $10,12 \pm 0,36$ et $9,28 \pm 0,33$ mJ/m^2. Il a été montré que les coupons en acier inoxydable 304L non traités et traités présentent un caractère acido-basique plus petit (γAB) avec des valeurs allant de 3,4 à 20,4 mJ/m^2 que les valeurs de Lifshitz Van Der Waals (γLW = $31,70 \pm 0,57$; $49,06 \pm 0,01$ mJ/m^2).

D'après nos résultats, les traitements simples et combinés ont significativement inhibé l'adhésion des deux souches bactériennes pendant les 10 heures d'incubation. L'inhibition de l'adhésion bactérienne pourrait être expliquée par le fait que le traitement par les huiles essentielles a altéré les propriétés physico-chimiques de la surface de l'acier inoxydable 304L. En effet, les mesures de l'angle de contact ont révélé que l'inox 304L sans HEs avait un comportement qualitativement hydrophobe et quantitativement hydrophile, des paramètres de donneur d'électrons et de Lifshitz-Van der Waals élevés, des paramètres d'accepteur d'électrons et de tension superficielle acido-basique (γAB) faibles.

Ces résultats confirment ceux des travaux antérieurs montrant que le traitement des surfaces des matériaux par des extraits de plantes peut modifier leurs caractéristiques physico-chimiques. Par ailleurs, Lekbach et ses collègues (2019) ont révélé que le traitement de l'acier inoxydable 304L par des extraits de *Salvia officinalis* et de *Cistus ladanifer* induit une altération de l'hydrophobicité de la surface du matériau (Lekbach et al., 2021, 2019). Un autre travail a rapporté que l'ajout d'un extrait de Thym à du bois de cèdre a engendré un changement dans le comportement physico-chimique de la surface du bois (réduction de l'hydrophobie et amélioration du paramètre donneur d'électrons) (Sadiki et al., 2014).

L'altération des paramètres physicochimiques des matériaux pourrait être due à l'existence de constituants bioactifs qui peuvent adhérer à la surface du matériau et former un film hydrophile qui diminue l'adhésion bactérienne (Lekbach et al., 2021; Samrot et al., 2021).

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude ont contribué à l'amélioration de l'utilisation commerciale de ces plantes indigènes du Maroc.

2. Evaluation de l'adhésion bactérienne à la surface de l'acier inoxydable 304L

Les résultats de l'adhésion de *S. aureus* et *P. aeruginosa* à la surface de l'acier inoxydable 304L sont présentés dans les figures 30 et 31, respectivement.

Le logiciel Matlab a été utilisé pour déterminer le nombre de cellules adhérant à la surface du matériau. L'analyse de microscopie électronique à balayage (MEB) a révélé que les deux souches bactériennes présentaient des affinités différentes pour le matériau étudié. En fait, *P. aeruginosa* a été capable d'adhérer à la surface de l'acier inoxydable 304L plus que *S. aureus*, avec des pourcentages d'adhésion respectifs de 89,56 ± 3,28% et 69,61 ± 4,05 % (figure 32).

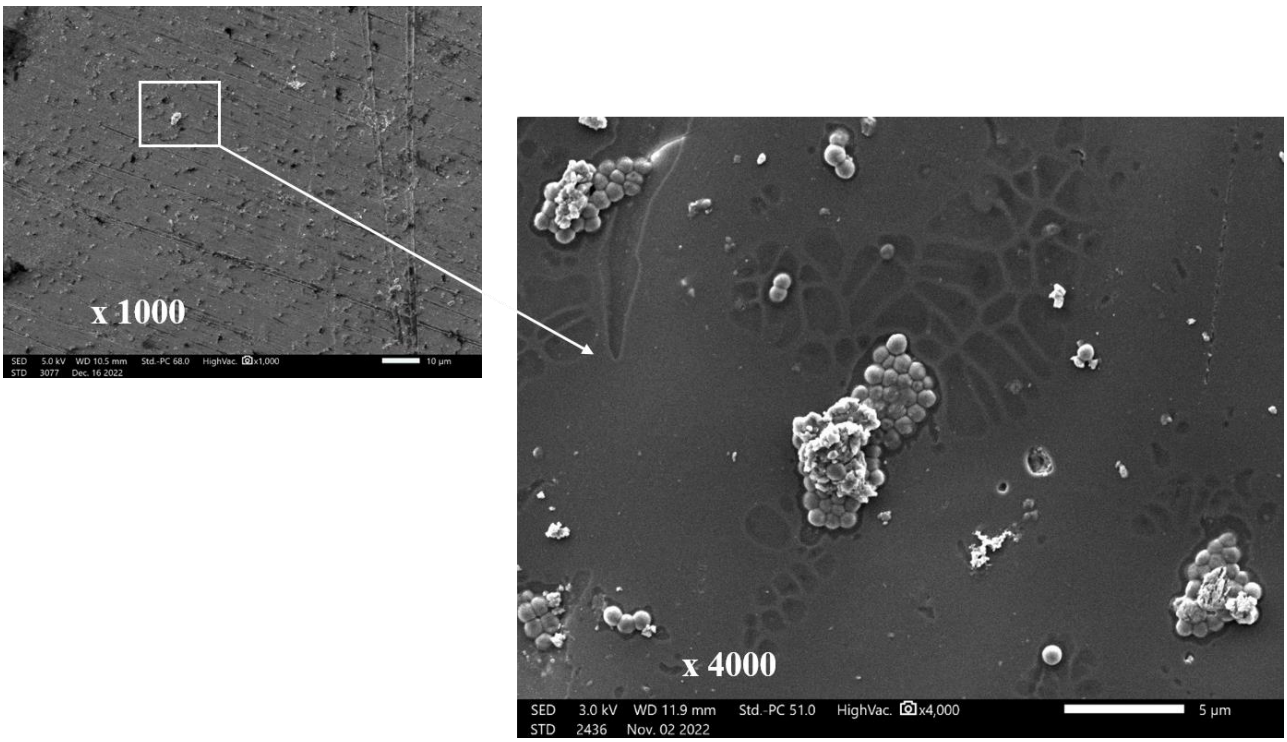


Figure 30. Analyse MEB de l'adhésion de *S. aureus* à la surface de l'acier inoxydable 304L après 10 heures d'incubation.

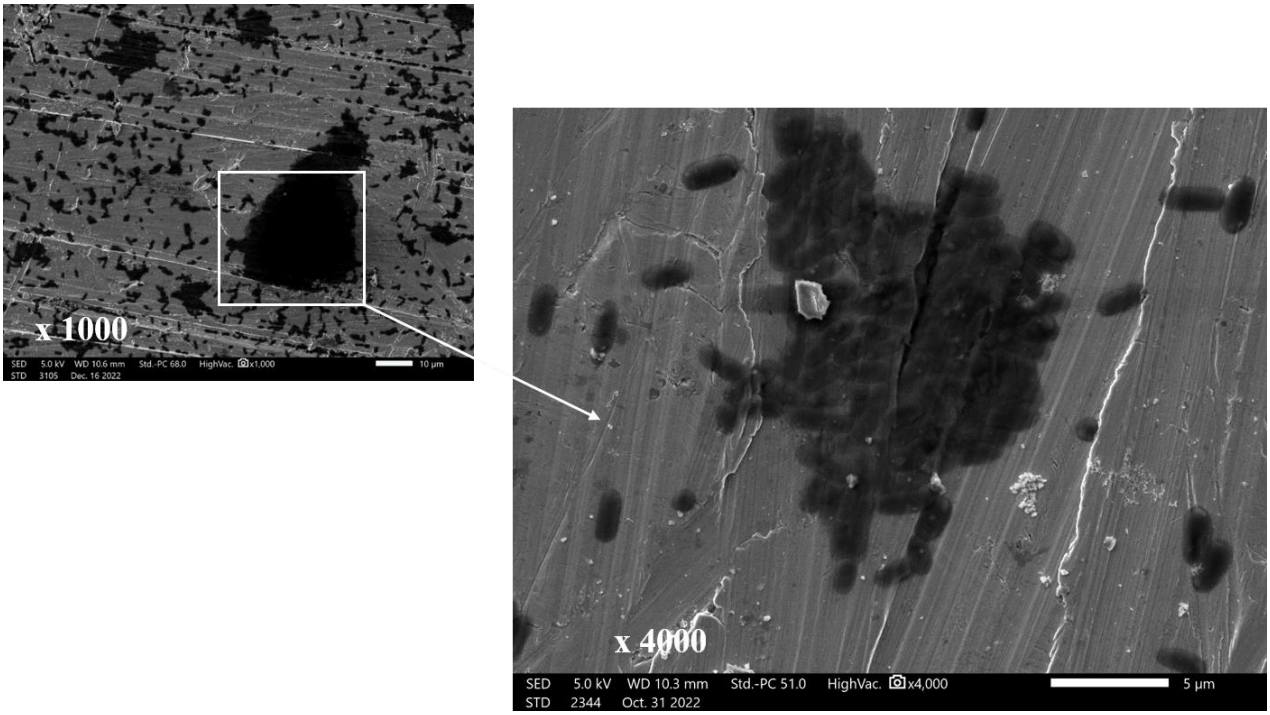


Figure 31. Analyse MEB de l'adhésion de *P. aeruginosa* à la surface de l'acier inoxydable 304L après 10 heures d'incubation.

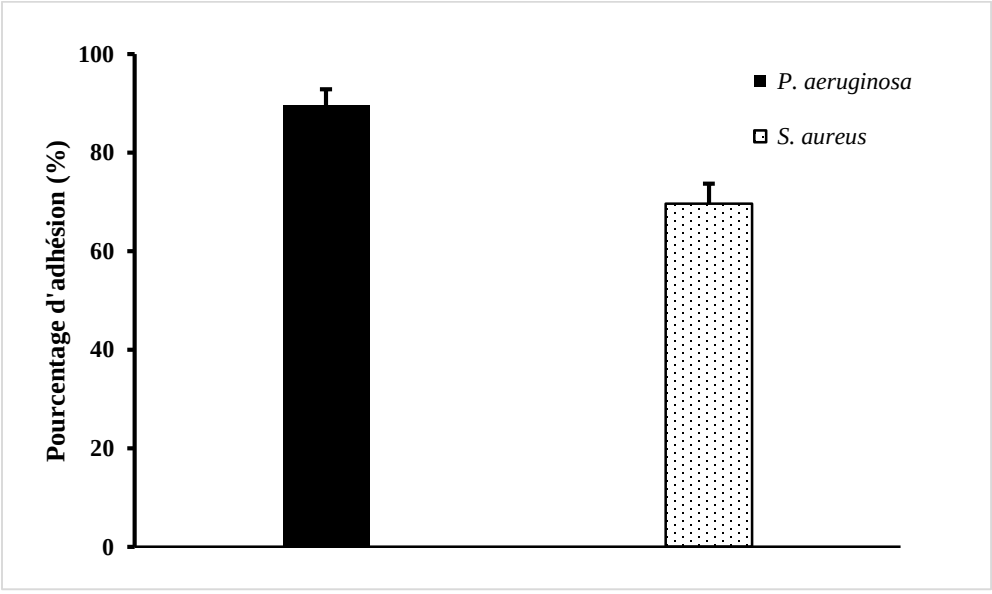


Figure 32. Pourcentage de la surface couverte de l'acier inoxydable par *P. aeruginosa* et *S. aureus* examiné par le logiciel MATLAB.

De plus, il existe une différence significative entre les surfaces des coupons de contrôle et ceux supplémentés avec des HEs de *L. stoechas*, de *M. suaveolens* et *A. visnaga* et leurs mélanges optimaux.

Dans le cas de *S. aureus*, l'attachement bactérien dans le coupon non traité était supérieur à 60%, alors que l'attachement des cellules dans les coupons traités avec les HEs de *L. stoechas* (CMI= 0,5% (v/v)), de *M. suaveolens* (CMI= 1% (v/v)) et *A. visnaga* (CMI= 0,5% (v/v)) différait de 2,95 à 7,1 %. En outre, l'ajout du mélange optimal 1 (27 % de l'HE de *M. suaveolens*, 43 % de l'HE d'*A. visnaga* et 30 % de l'HE de *L. stoechas*) à la surface de l'acier inoxydable 304L a considérablement amélioré sa propriété anti-adhésion (% d'adhésion = 1 %) (figure 33, figure 34).

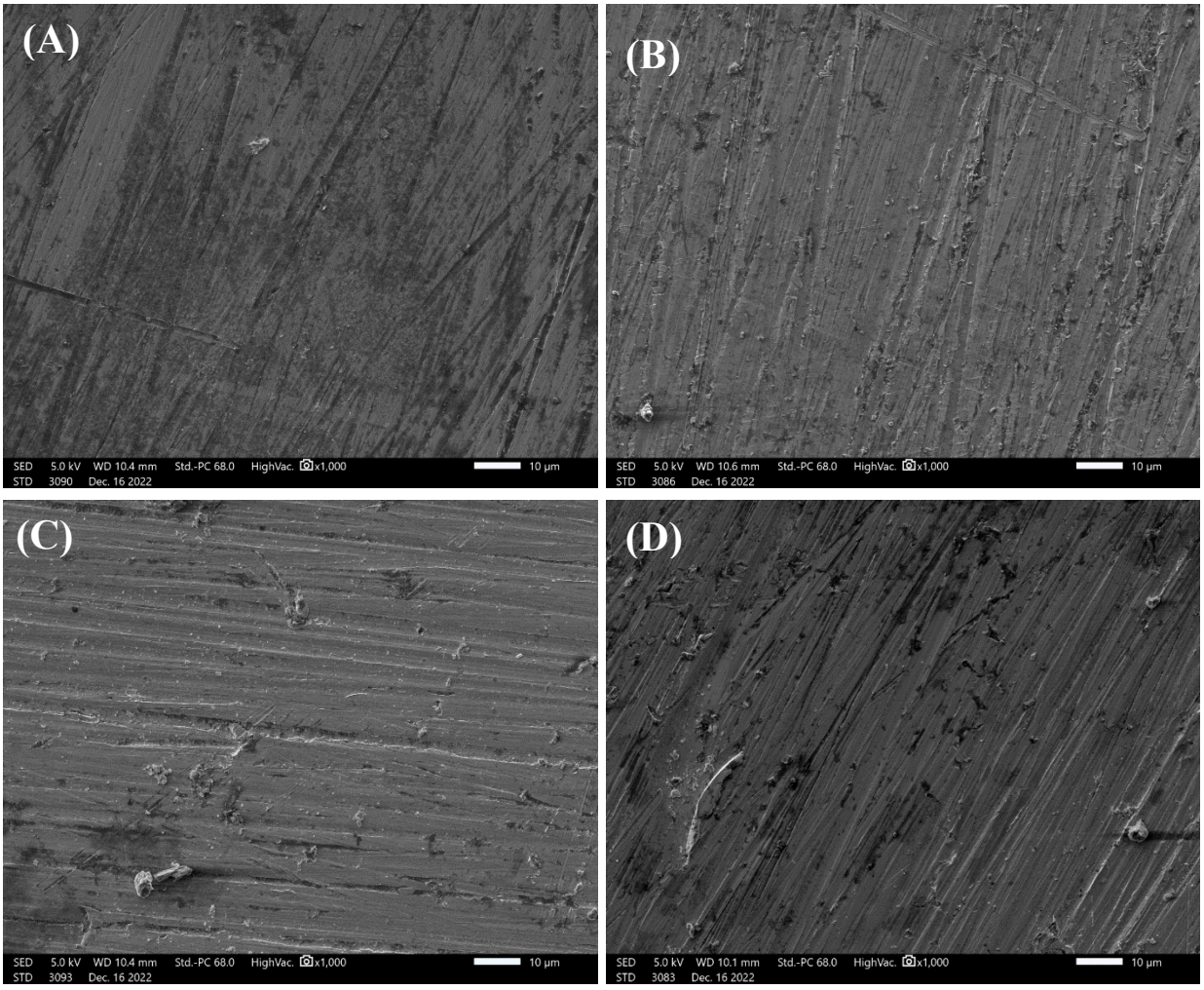


Figure 33. Analyse MEB (×1000) de l'adhésion de *S. aureus* sur la surface en acier inoxydable traitée avec (A) l'HE de *L. stoechas*, (B) l'HE d'*A. visnaga*, (C) l'HE de *M. suaveolens* et (D) MO1.

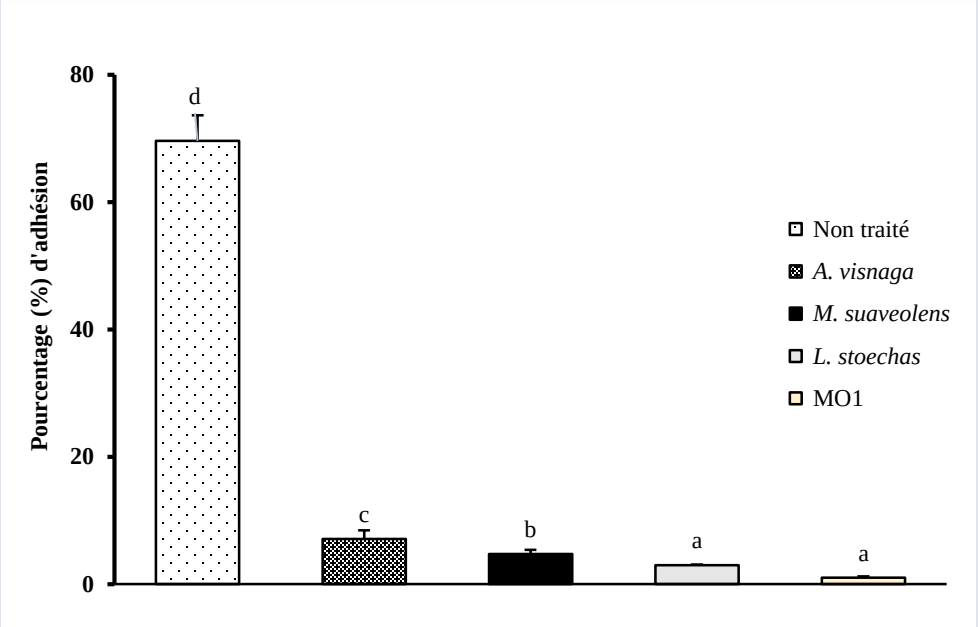


Figure 34. Pourcentage de la surface couverte de l'acier inoxydable par *S. aureus* non traité et traité par les trois HEs et leur MO1 examiné par le logiciel MATLAB.

Les données avec la même lettre présentent une différence non significative par le test de Tukey (ANOVA, $p < 0,05$). Les résultats sont exprimés en moyennes ± l'écart-type de trois mesures indépendantes.

En ce qui concerne *P. aeruginosa*, l'analyse au MEB et par le logiciel Matlab ont révélé que son adhésion à la surface de l'acier inoxydable 304L était plus favorable avec un pourcentage approximatif de 90 %. Il a été détecté que les traitements avec des HEs pures ont inhibé environ 50 % de l'adhésion bactérienne sur les coupons en acier inoxydable 304L. Ainsi, l'ajout des HEs de *L. stoechas* (CMI= 0,5% (v/v)), *A. visnaga* (CMI= 0,25% (v/v)) et *M. suaveolens* (CMI= 0,25% (v/v)) a permis de réduire cette adhésion à 49,23 ± 1,56 % ; 51,14 ± 2,44 % et 55,53 ± 2,07 %, respectivement. Il est intéressant de noter que le mélange optimal 2 composé de 50 % de l'HE d'*A. visnaga* et de 50 % de l'HE de *L. stoechas* a pu inhiber près de 80 % de l'adhésion de *P. aeruginosa* à la surface de ce matériau (% d'adhésion = 20 %)) (figure 35, figure 36).

Ces résultats confirment les données obtenues par l'angle de contact, qui mettent en évidence la restriction de l'adhésion bactérienne sur le matériau en présence des HEs seules et de leurs mélanges optimaux.

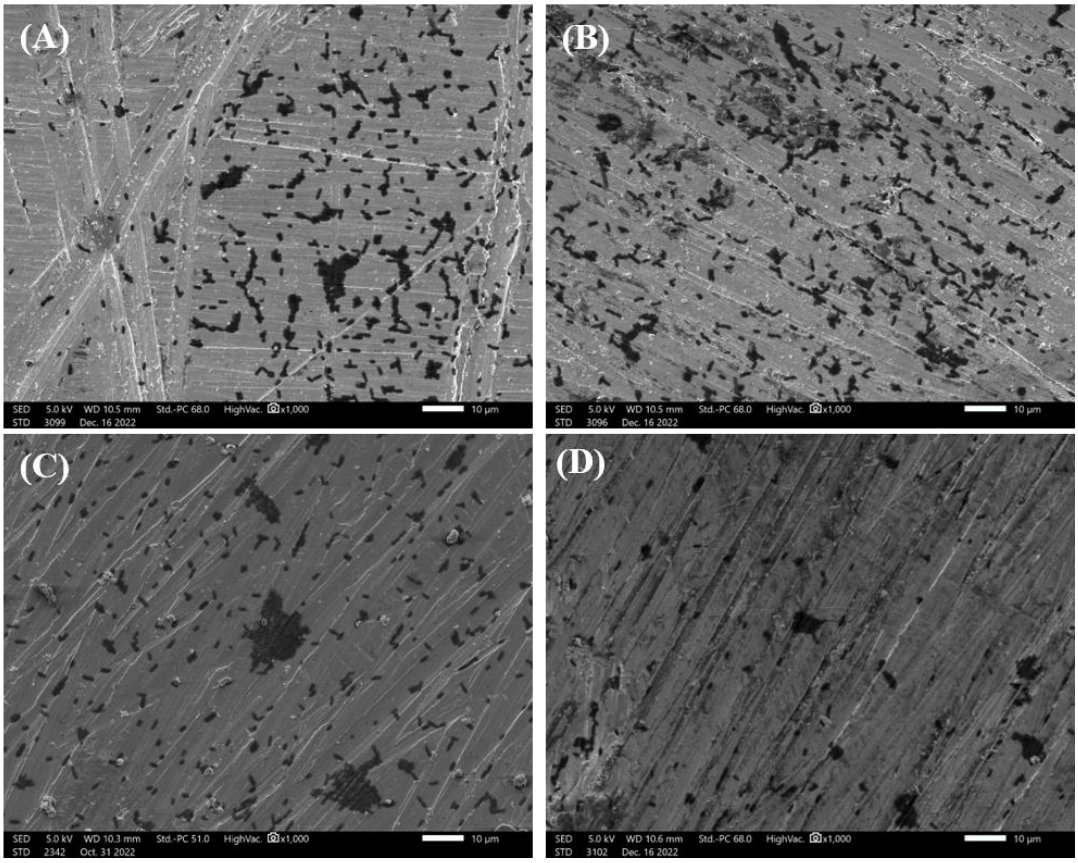


Figure 35. Analyse MEB (×1000) de l'adhésion de *P. aeruginosa* sur la surface en acier inoxydable traitée avec (A) l'HE de *L. stoechas*, (B) l'HE d'*A. visnaga,* (C) l'HE de *M. suaveolens* et (D) MO2.

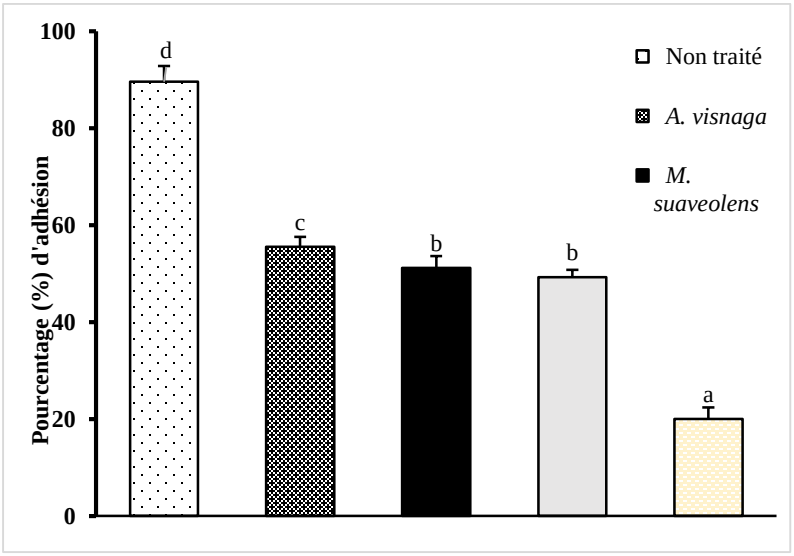


Figure 36. Pourcentage de la surface couverte de l'acier inoxydable par *P. aeruginosa* non traité et traité par les trois HEs et leur MO2 examiné par le logiciel MATLAB.

Les données avec la même lettre présentent une différence non significative par le test de Tukey (ANOVA, $p < 0,05$*). Les résultats sont exprimés en moyennes ± l'écart-type de trois mesures indépendantes.*

Théoriquement, l'adhésion des cellules aux surfaces hydrophobes obéit aux mêmes principes que l'adsorption des protéines (Van Oss, 1995). Ces molécules dotées d'une petite taille et d'un coefficient de diffusion élevé adhèrent plus rapidement que les cellules bactériennes aux surfaces (Palmer et al., 2007). Les protéines adsorbées forment alors une couche hydrophile qui réduit l'adhésion cellulaire (Otto et al., 2001). L'adhésion cellulaire peut alors se produire lorsque la surface cellulaire présente des récepteurs spécifiques aux protéines tels que les adhésines (Cheng et al., 2007; Hori and Matsumoto, 2010), ce qui pourrait expliquer la différence de pourcentage d'adhésion de *S. aureus* et *P. aeruginosa* à la surface de l'acier inoxydable 304L. Au-delà des paramètres d'énergie libre et d'hydrophobie des cellules bactériennes et des surfaces des matériaux, l'adhésion cellulaire peut être influencée par divers paramètres tels que la composition chimique du matériau, le temps de contact adhésif, les conditions expérimentales, le pH du milieu, ainsi que la rugosité et la topographie du substrat (Hori and Matsumoto, 2010; Ribeiro et al., 2012).

La variation éventuelle de l'un de ces paramètres peut avoir un impact direct sur le processus d'adhésion, ce qui rend la prédiction de l'adhésion des bactéries relativement dépendante. Kim et al., (2009) ont affirmé que l'expression des adhésines bactériennes était influencée par la présence des huiles essentielles. Par conséquent, les HEs de *L. stoechas*, d'*A. visnaga* et *M. suaveolens* ont la capacité d'inhiber la première étape de la formation d'un biofilm.

L'efficacité des propriétés anti-adhésives des mélanges optimaux contre les cellules planctoniques ou les biofilms peuvent être explique per l'effet synergique entre ces trois HEs. Plusieurs études ont montré que les effets antimicrobiens des huiles essentielles résultent de l'interaction entre tous les composants de l'huile, et pas seulement des effets d'un seul composé (Altun et Yapici, 2022; Ju et al., 2022; Lis-Balchin, 2006). L'utilisation d'un composé spécifique d'une HE n'est pas suffisamment efficace pour inhiber la formation d'un biofilm (Sandasi et al., 2008). En outre, l'effet inhibiteur plus important sur la formation de biofilms de *S. aureus* et *P. aeruginosa* par les mélanges optimaux 1 et 2, respectivement, pourrait être dû aux effets synergiques potentiels entre les composés majeurs et mineurs présents dans les HEs de *L. stoechas*, d'*A. visnaga* et *M. suaveolens.*

En effet, il a été mentionné précédemment que les phénols et les alcools monoterpéniques montraient des actions synergiques contre diverses souches pathogènes (Marchese et al., 2017).

Ces résultats concordent avec ceux des travaux antérieurs montrant que le revêtement à base de chitosane complété par la formulation des HEs de *Cinnamomum zeylanicum, Thymus satureioides*, *Pelargonium asperum* et *Eugenia caryophyllus* avait l'action anti-adhésive la plus importante contre les biofilms hétérogènes (Mouhoub et al., 2022). Le mécanisme des mélanges des HEs et d'HEs pures peut s'expliquer par le fait que les composés volatils peuvent agir sur l'intégrité de la membrane des bactéries. Ils peuvent également réduire l'expression de déterminants de virulence cruciaux médiés par le quorum sensing qui contribuent à la formation de biofilms (Yu and Shi, 2021). Ces mécanismes peuvent expliquer l'inhibition de l'attachement de *S. aureus* et de *P. aeruginosa* à la surface de l'acier inoxydable 304L.

Dans cette étude, la fenchone, le camphre, le linalol et l'oxyde de pipéritenone étaient les principaux composés des HEs examinées. Cela montre que les huiles comprennent de nombreuses classes de substances phytochimiques correspondant principalement au groupe des monoterpènes.

Des études antérieures ont montré que les composés monoterpéniques ont la capacité de perturber les membranes des bactéries et de supprimer l'activité de certaines enzymes (coagulase, lipase) et toxines (SEA et SEB) produites par des souches pathogènes, notamment *S. aureus* et *P. aeruginosa*, qui contribuent à leur virulence et à leur pathogénicité en favorisant la colonisation, les lésions tissulaires et l'évasion du système immunitaire (Marchese et al., 2017).

Des études ont également montré que le linalol, le menthol, le limonène, le camphre et la fenchone altèrent la perméabilité de la cellule en pénétrant à travers les chaînes d'acyle gras des bicouches lipidiques membranaires, perturbent la bicouche lipidique et changent la fluidité de la membrane cellulaire (Barbosa et al., 2020; Borella et al., 2020). Par ailleurs, le linalol et d'autres monoterpènes représentent des composés ayant une activité inhibitrice du quorum sensing en affectant la communication entre les bactéries (Mukherji and Prabhune, 2015). En effet, comprendre et cibler les mécanismes du quorum sensing peut contribuer au développement de stratégies plus efficaces pour prévenir ou traiter les infections liées aux biofilms.

Par conséquent, les formulations anti-adhésives développé à l'issue de ce travail ont fourni une orientation théorique et expérimentale pour découvrir et affiner des agents antimicrobiens potentiels à partir d'huiles essentielles marocaines, qui peuvent servir d'alternatives naturelles pour lutter contre la formation de biofilms sur les surfaces en acier inoxydable utilisées dans le cadre d'applications biomédicales et d'ingénierie.

V. Activité antioxydante

Au cours des dernières années, l'efficacité des produits antioxydants naturels dans le traitement de diverses maladies a été démontrée. Un grand nombre des huiles essentielles aux propriétés antioxydantes doivent être mentionnées ici, leur utilisation en tant qu'antioxydants naturels étant un domaine d'intérêt réel, en particulier dans les sciences alimentaires et la médecine. Les HEs sont des produits complexes, généralement constitués de plus de 50 composants à des concentrations variables (Tit et Bungau, 2023). Les substances des HEs décrites comme ayant une activité antioxydante représentent une fraction importante de l'ensemble des composés, et sont souvent indiquées comme une source potentielle pour la découverte et le développement de nouveaux composés bioactifs, à usage médical, pharmaceutique, cosmétique et autre (Anthony et al., 2012; Diniz do Nascimento et al., 2020).

En outre, les HEs et leurs composants ont été étudiés en tant qu'additifs alternatifs dans l'industrie alimentaire, soulignant leurs avantages par rapport aux antioxydants synthétiques qui ont souvent des effets négatifs sur la santé (Amorati et al., 2013; Chrysargyris et al., 2020).

Dans cette étude, la capacité antioxydante des HEs obtenues à partir des parties aériennes de *L. stoechas*, *A. visnaga*, et *M. suaveolens* a été examinée à l'aide de quatre tests complémentaires, à savoir les tests DPPH, ABTS, pouvoir réducteur, et β-carotène. Ces méthodes utilisent différents mécanismes pour mesurer l'activité antioxydante : le test de blanchiment du β-carotène évalue la capacité d'un antioxydant à prévenir la peroxydation lipidique dans les phases d'initiation et de propagation (Dorman et al., 2000; Prieto et al., 2012), la méthode du pouvoir réducteur détermine la capacité de réduction ferrique (Pulido et al., 2000; Shahidi and Zhong, 2015), et les tests DPPH et ABTS évaluent la capacité de piégeage des radicaux libres (Garcia et al., 2012; Kedare and Singh, 2011; Re et al., 1999). Cette approche nous permet d'obtenir des résultats complémentaires et une compréhension globale du potentiel antioxydant des huiles essentielles étudiées. L'effet antioxydant a été exprimé en valeurs de CI_{50} qui ont été comparé à celles des antioxydants synthétiques standards (acide ascorbique et BHT).

1. Piégeage du radical libre DPPH

Le test de DPPH est une technique très répandue, rapide, facile et peu coûteuse pour évaluer les propriétés antioxydantes, en utilisant notamment les radicaux libres pour évaluer le potentiel des échantillons testés à servir comme donneurs d'hydrogène ou de piégeurs de radicaux libres.

La figure 37 montre que les HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga*, et *L. stoechas*, ont la capacité de réduire le radical violet stable DPPH en DPPH-H jaune, jusqu'à 68,99 ± 1,15%, 62 ± 4,26 % et 58,13± 2,57 à la concentration de 0,15 mg/mL, respectivement. On peut constater que les trois HEs présentent des capacités de piégeage différentes. Par ailleurs, une activité anti-radicalaire dépendante de la concentration a été observée pour toutes les HEs étudiées.

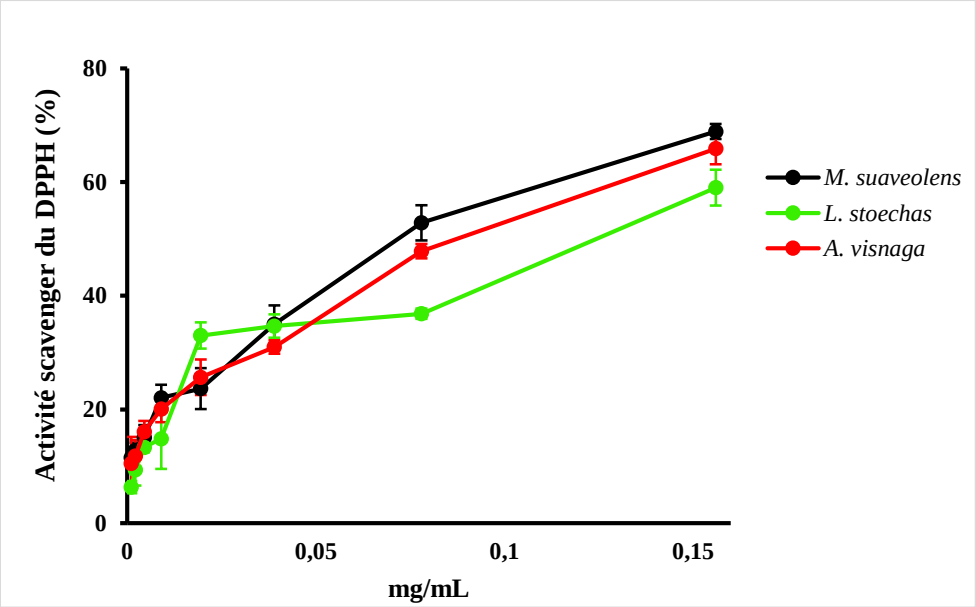


Figure 37. Activité de piégeage du radical DPPH des HEs étudiées à différentes concentrations.
Les données sont exprimées par moyenne de trois répétitions (n=3) avec ± l'écart-type.

Les valeurs de la CI_{50} ont indiqué des différences significatives ($p < 0,05$) dans l'effet antioxydant des HEs *A. visnaga* (CI_{50} = 221,92 ± 1,2 µg/mL), *L. stoechas* (CI_{50} = 163,46 ± 5,66 µg/mL) et *M. suaveolens* (CI_{50} = 215,59 ± 5,28 µg/mL) et des antioxydants standards BHT (CI_{50} = 79,18 ± 5,24 µg/mL) et acide ascorbique (CI_{50} = 23,80 ± 5,0 µg/mL) (tableau 22). En effet, les HEs étudiées ont été moins efficaces que les agents antioxydants synthétiques (statistiquement significatif à $p < 0,05$).

Tableau 22. CI_{50} des HEs et des antioxydants synthétiques contre le radical DPPH.

Huiles et standards	CI_{50} (µg/mL)
A. visnaga	221,92 ± 1,2^{d}
L. stoechas	163,46 ± 5,66^{c}
M. suaveolens	215,59 ± 5,28^{d}
BHT	79,18 ± 5,24^{b}
Acide ascorbique	23,80 ± 5,0^{a}

*Les données sont exprimées par moyenne de trois répétitions (n=3) avec ± l'écartype. *Les valeurs indiquées avec des lettres différentes montrent que la différence est significative (p< 0,05), les valeurs sont groupées par ordre croissant a<b<c<d.

2. Piégeage du radical libre ABTS

Le cation ABTS+ est un radical libre stable fréquemment utilisé pour identifier l'activité antioxydante des produits naturels, notamment les HEs. D'après la figure 38, la capacité de piégeage du radical libre ABTS de toutes les huiles testées a révélé un profil d'effet dépendant de la concentration. Cette activité antiradicalaire augmente proportionnellement à la concentration en HEs. L'HE de *M. suaveolens* a montré une activité de piégeage des radicaux libres (ABTS) le plus élevé, suivi par l'HE de *L. stoechas*, cependant, l'HE d'*A. visnaga* a présenté la plus faible activité.

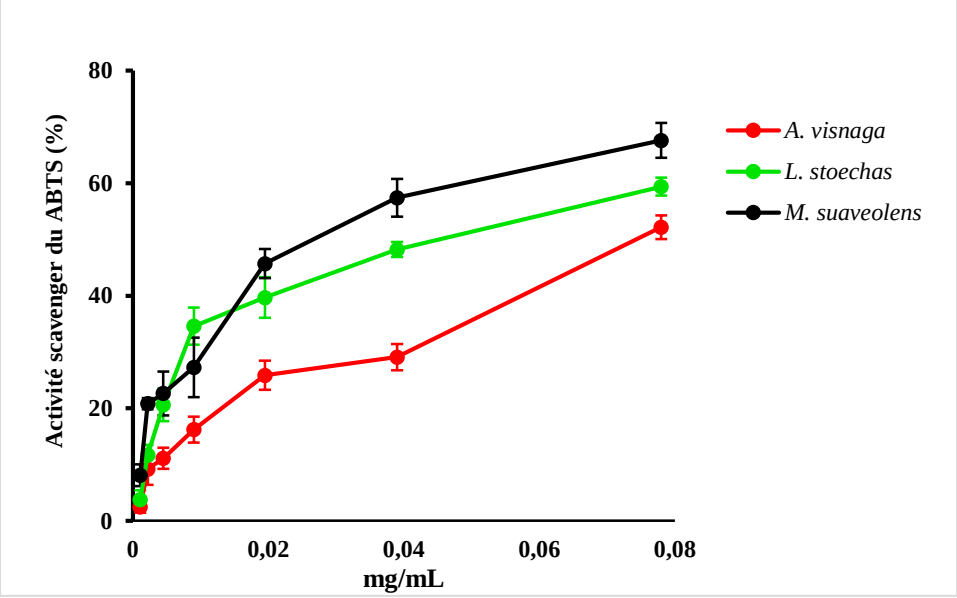


Figure 38. Activité de piégeage du radical ABTS des HEs étudiées à différentes concentrations.

Les données sont exprimées par moyenne de trois répétitions (n=3) avec ± l'écart-type.

L'analyse de résultats du tableau 23 a révélé que les HEs testées possèdent une forte activité contre le radical ABTS avec des CI_{50} de 51,10 ± 1,28 µg/mL, 78,06 ± 2,85 µg/mL et 101,92 ± 4,05 µg/mL pour les HEs de *M. suaveolens*, *L. stoechas*, et *A. visnaga*, respectivement. Cette activité est légèrement inférieure à celle révélée par les antioxydants synthétiques, à savoir le BHT et l'acide ascorbique, CI_{50} = 48,18 ± 5,24 µg/mL et CI_{50} = 31,23 ± 1,17 µg/mL, respectivement.

Tableau 23. CI_{50} des HEs et des antioxydants synthétiques contre le radical ABTS.

Huiles et standards	CI_{50} (µg/mL)
A. visnaga	$101,92 \pm 4,05^{d}$
L. stoechas	$78,06 \pm 2,85^{c}$
M. suaveolens	$51,10 \pm 1,28^{b}$
BHT	$48,18 \pm 5,24^{b}$
Acide ascorbique	$31,23 \pm 1,17^{a}$

*Les données sont exprimées par moyenne de trois répétitions (n=3) avec ± l'écart-type. *Les valeurs indiquées avec des lettres différentes montrent que la différence est significative (p< 0,05), les valeurs sont groupées par ordre croissant a<b<c<d.

3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est utilisé comme indicateur de la capacité d'un composé à céder un électron. Il permet de mesurer le potentiel réducteur de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ferreux Fe^{2+} par des substances à effet antioxydant.

La figure 39 montre que le pouvoir réducteur des HEs testées et les antioxydants de référence est dans l'ordre suivant : BHT > Acide ascorbique > *M. suaveolens* > *L. stoechas* > *A. visnaga*.

L'HE de *M. suaveolens* a démontré le pouvoir réducteur le plus important avec la concentration efficace (CE_{50}) de 144.38 ± 6.10 µg/mL. Un effet modéré a été enregistré pour l'HE de *L. stoechas* **(**CE_{50}= 192.27 ± 8.78 µg/mL). Cependant, l'HE d'*A. visnaga* possède un faible pouvoir réducteur (CE_{50}= 348.28 ± 5.34 µg/mL). Malgré leur pouvoir antioxydant important, les HEs testées restent moins efficaces que les antioxydants standards (différence statistiquement significative à p < 0,05).

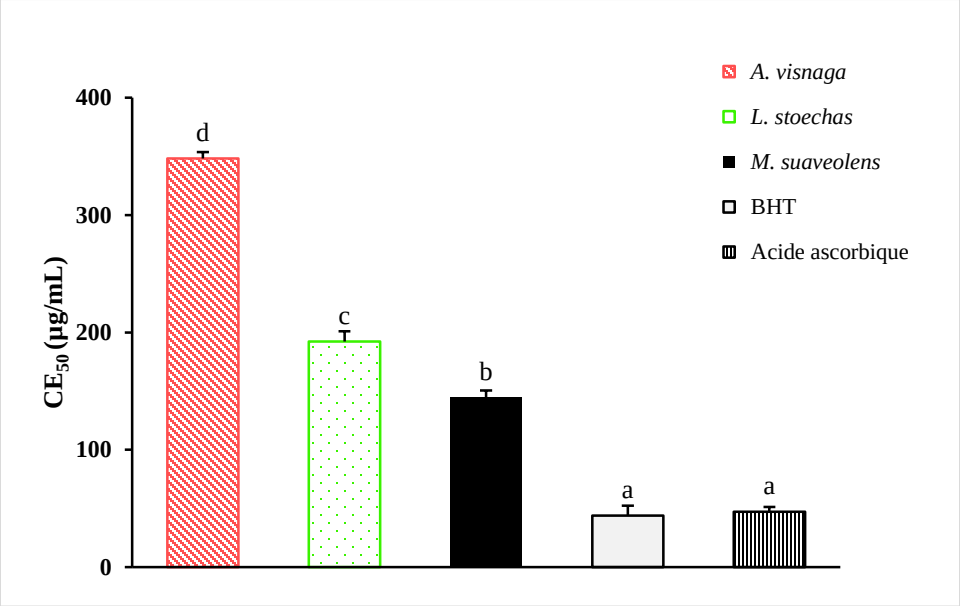


Figure 39. Pouvoir réducteur (CE_{50}) des HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens* et *A. visnaga*, comparée aux antioxydants standards (BHT et acide ascorbique).

Les données avec la même lettre présentent une différence non significative par le test de Tukey (ANOVA, $p < 0,05$). Les résultats sont exprimés en moyennes ± l'écart-type de trois mesures indépendantes.

4. Test de blanchissement du β-carotène

La figure 40 présente le potentiel des HEs à prévenir la peroxydation des lipides, estimée par la méthode de décoloration du β-carotène. On note que l'HE *de L. stoechas* empêche d'une manière efficace l'oxydation de l'acide linoléique à une CI_{50} de 143,49 ± 2.05 µg/mL. Une activité moindre mais importante a été indiqué par l'HE de *M. suaveolens* (CI_{50}= 168,50 ± 3,20 µg/mL). En concordance avec la réduction de l'ABTS, le DPPH et du pouvoir réducteur, l'HE d'*A. visnaga* est généralement moins active contre la décoloration oxydative du β-carotène avec $CI_{50=}$ 284,29 ± 2,94 µg/mL. En générale, les HEs testées sont moins efficaces que les antioxydants standard, l'acide ascorbique (CI_{50}= 37,07 ± 1,44 µg/mL) et le BHT (CI_{50}= 56,07 ± 2,83 µg/mL) ($p < 0,05$).

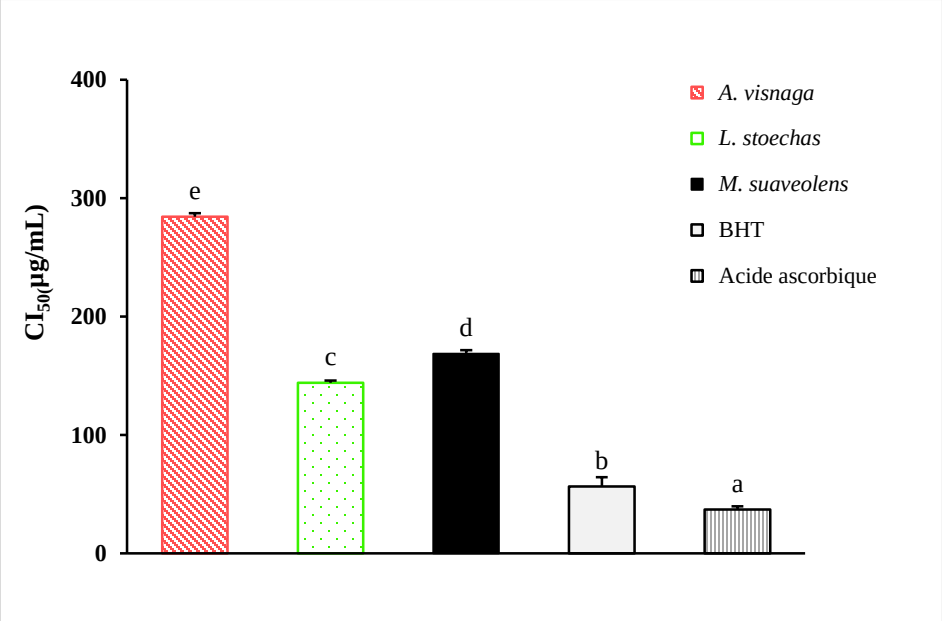


Figure 40. CI_{50} des HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens* et *A. visnaga*, comparée aux antioxydants standards (BHT et acide ascorbique) déterminée par le test du β-carotène.

Les données avec la même lettre présentent une différence non significative par le test de Tukey (ANOVA, $p < 0,05$). Les résultats sont exprimés en moyennes ± l'écart-type de trois mesures indépendantes.

5. Discussion

En raison des préoccupations toxicologiques liées à l'utilisation de substances synthétiques dans les aliments et de la sensibilisation croissante aux aliments naturels, l'utilisation de substances naturelles en tant que conservateurs et antioxydants alimentaires suscite un intérêt croissant (Lourenço et al., 2019; Shahidi and Zhong, 2015; Wang et al., 2021). Dans ce contexte, les plantes aromatiques, en particulier leurs HEs, sont évaluées pour leur activité antioxydante. Il est donc pertinent d'évaluer l'activité antioxydante naturelle des HEs, étant donné qu'elles sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire et des boissons (Ahmed et al., 2019; Farias et al., 2020; Mollova et al., 2020; Nafis et al., 2019; Seibert et al., 2019).

De nombreuses molécules naturelles, en particulier celles produites dans le règne végétal, possèdent au moins un cycle benzénique avec un groupe fonctionnel hydroxyle dans leur squelette. Ces composés sont collectivement connus sous le nom de composés phénoliques et, grâce à leur potentiel de don d'hydrogène ou d'électron unique, ils jouent généralement un rôle important dans l'activité antioxydante des HEs (Alizadeh et al., 2010; Ben Farhat et al., 2009; Elzaawely et al., 2007; Tohidi et al., 2017).

Dans notre étude, les HEs obtenues à partir des parties aériennes de *L. stoechas, M. suaveolens et A. visnaga* ont exercé un potentiel antioxydant très important par les différents tests in vitro utilisés. En effet, les HEs testées ont montré des activités antioxydantes plus importantes par les méthodes DPPH et ABTS que par le potentiel réducteur et test du β-carotène. La différence de capacité antioxydante entre les trois HEs est certainement due à des profils chimiques différents (Bouyahya et al., 2017; Yang et al., 2010). Par ailleurs, l'activité antioxydante des HEs peut être due à des mécanismes différents puisqu'elles présentent une complexité chimique avec des groupes fonctionnels, une polarité et un comportement chimique différents ; ainsi, pour évaluer leur efficacité, plusieurs méthodes analytiques complémentaires doivent être utilisées. Par conséquent, l'activité antioxydante des HEs dépend du système utilisé pour tester cette action.

Nos résultats convergent avec ceux d'études antérieures menées par diverses équipes de recherche qui ont démontré les propriétés antioxydantes des HEs de *L. stoechas, M. suaveolens et A. visnaga* à travers différents tests antioxydants (Al-Mijalli et al., 2022; Benali et al., 2023; Bouyahya et al., 2017; Kamal et al., 2022). Les activités antioxydantes marquées de ces trois huiles peuvent être attribuées en partie à leur teneur élevée en composés phénoliques.

Selon la littérature, il existe une corrélation positive entre la composition chimique des HEs de *L. stoechas, A. visnaga*, et *M. suaveolens* et leur potentiel antioxydant (Baptista et al., 2015; Keddad et al., 2016; Zekri et al., 2016; Zerkani et al., 2021). Ces HEs peuvent agir en tant qu'agent réducteur, agent de neutralisation de l'oxygène singulet $^1O_2$ et donneur de liaisons H. Il est bien connu que certains monoterpènes et sesquiterpènes possèdent des effets inhibiteurs remarquables sur l'oxydation (Balahbib et al., 2021; Hachlafi et al., 2021; Kokilananthan et al., 2022; Zengin et al., 2016). Les HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens* et *A. visnaga* contiennent un pourcentage élevé de monoterpènes oxygénés, tels que la fenchone, le camphre, le linalol, l'oxyde de pipéritonone et le β-ocimène. Ces composants bioactifs pourraient agir seuls ou en synergie comme des agents antioxydants naturels, jouant un rôle protecteur pour la santé humaine contre de nombreuses maladies liées au stress oxydatif (Keskin et al., 2017; Ola and Sofolahan, 2021; Zunino and Zygadlo, 2004).

Peu de travaux ont été consacrés au potentiel antioxydant de l'HE de *M. suaveolens*. En effet, une étude menée sur l'HE de *M. suaveolens* du Nord-Ouest du Maroc a montré une activité antioxydante remarquable contre le radical DPPH avec CI_{50} = 64,76 ± 2,24 µg/mL comparé à celle de l'acide

ascorbique (CI_{50} = 22,61 ± 1,08 µg/mL) et Trolox (CI_{50} = 34,12 ± 2,13 µg/mL) utilisés comme contrôles positifs (Moussaoui, 2013). Cependant, les HES d'Égypte ont exercé un potentiel antiradicalaire modéré in vitro, avec une CI_{50} de 200 µg/mL par rapport à l'acide ascorbique (7,5 µg/mL) (Mata et al., 2007). L'activité de piégeage des radicaux libres de de l'HE de *M. suaveolens* est généralement déterminée par les interactions entre les molécules bioactives majeures et mineures avec divers mécanismes d'action. Par ailleurs, cet effet pourrait être attribué à la teneur élevée en oxyde de pipériténone (74,55%).

En outre, plusieurs études ont révélé que les HEs de espèces de *Lavandula* possèdent des propriétés antioxydantes et préviennent ainsi la peroxydation des lipides (Chrysargyris et al., 2020; Insawang et al., 2019; Matos et al., 2009). L'activité antioxydante de l'HE de *L. stoechas* évaluée à l'aide de l'activité de piégeage du DPPH et ABTS et du test pouvoir réducteur et β-carotène, a montré un effet antioxydant très important. Cette activité est certainement liée à la composition chimique de cette huile qui est riche en composés phénoliques tels que la fenchone et le camphre. En effet, plusieurs études ont démontré les effets antioxydants des HEs riches en ces composés (Bouyahya et al., 2017; Costa et al., 2015; Keskin et al., 2017).

De plus, la capacité de l'HE obtenue à partir de la partie aérienne de *L. stoechas* à piéger le radical libre DPPH et ABTS est en accord avec ce qui a été rapporté par d'autres études (Carrasco et al., 2015; Cherrat et al., 2014; Matos et al., 2009). Carrasco et al. (2015) ont trouvé une activité antioxydante intéressante, tandis que Cherrat et al. (2014) ont montré un effet antioxydant modéré de l'HE de *L. stoechas*. Généralement, les composés phénoliques des HEs de *L. stoechas* pourraient être responsables de ses effets antioxydants. Toutefois, les effets synergiques de divers composants essentiels pourraient également contribuer à l'activité antioxydante.

En ce qui concerne l'HE d'*A. visnaga*, l'activité antioxydante légèrement faible de notre échantillon peut s'expliquer par la déficience du contenu phénolique, ce qui est suggéré par leur non-dominance dans la composition chimique. À cet égard, une étude récente menée par Kamal et al. (2022) a démontré des fortes corrélations entre l'activité antioxydante de l'HE d'*A. visnaga*, le taux des polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et des tanins condensés avec respectivement r = 0,958 ; R^2 = 0,917, r = 0,851 ; R^2 = 0,724, et r = 0,971 ; R^2 = 0,942 à un niveau de confiance de 95 %. De plus, les auteurs ont montré que la forte corrélation positive observée pour les phénols et les flavonoïdes, suggérant que 94,2 % et 91,71 %, respectivement, de la variabilité de l'activité

antioxydante de l'HE d'*A. visnaga* est expliquée par la variabilité des polyphénols totaux et des composés flavonoides totaux. Les autres 5,8 et 8,29 % de la variance sont expliqués par d'autres facteurs (Kamal et al., 2022). Ces résultats concordent avec les rapports de la littérature qui montrent que la décoloration de la solution DPPH est fortement corrélé avec la quantité du contenu phénolique total (Villaño et al., 2007; Zheng et al., 2010).

Certaines études ont suggéré que les HEs peuvent interférer directement avec les radicaux réactifs pour les détruire en acceptant ou en donnant des électrons pour éradiquer l'état non apparié du radical, de même qu'elles peuvent réduire indirectement la formation de radicaux libres en réprimant les actions ou les productions de radicaux libres ou en améliorant les activités et les générations d'autres enzymes antioxydantes (Baptista-Silva et al., 2020; Bhavaniramya et al., 2019b; Mimica-Dukić et al., 2010). Il a également été rapporté que les HEs peuvent entraver l'oxydation des lipides en bloquant l'extraction continue d'hydrogène et en inhibant la production d'oxygène singulet et la fixation des catalyseurs à base d'ions métalliques de transition (Amorati et al., 2013; Bhavaniramya et al., 2019b).

VI. Activité antidiabétique *In vitro*

Bien que plusieurs rapports ont été établis sur les effets antioxydants et antimicrobiens des huiles essentielles obtenues à partir de *M. suaveolens*, *A. visnaga* et *L. stoechas*, il existe peu d'informations sur leurs propriétés antidiabétiques. De ce fait, la présente étude vise à évaluer les effets antidiabétiques des trois HEs sélectionnées à travers leurs actions inhibitrices des activités enzymatiques de l'α-amylase et de l'α-glucosidase.

Ces enzymes jouent un rôle crucial dans la digestion gastro-intestinale de l'amidon et l'hydrolyse des carbohydrates lors de la réabsorption du glucose. L'inhibition de ces enzymes peut réduire l'hyperglycémie postprandiale en empêchant l'absorption de l'amidon alimentaire (Bouhrim et al., 2020; Boutahiri et al., 2021; Laaraj et al., 2022; Tiji et al., 2021). Par conséquent, l'inhibition de l'α-glucosidase intestinale (EC3.2.1.20) et l'α-amylase pancréatique (EC3.2.1.1), sont décrites comme des cibles thérapeutiques efficaces pour modifier l'hyperglycémie postprandiale pathologique observée chez les patients atteints de diabète de type 2 (Butala et al., 2017; Okechukwu et al., 2020; Semaan et al., 2017).

Les résultats présentés dans les figure 41 et figure 42 montrent clairement que l'inhibition de l'α-amylase et l'α-glucosidase augmente en fonction de la concentration pour les HEs testées. En effet, les HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga* et *L. stoechas* ont inhibé les 2 enzymes de manière dose-dépendante. Les HEs ont pu restreindre les activités des enzymes, l'α-amylase et de l'α-glucosidase à des faibles doses comparées à l'agent standard utilisé (acarbose). Il faut noter qu'il n'y a pas de différences significatives entre les activités inhibitrices des HEs étudiées et de celle de l'acarbose ($p < 0,05$).

Les résultats sont également représentés sous forme de valeurs CI_{50} (tableaux 24 et 25). Les HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga* et *L. stoechas* ont montré une inhibition significative de l'α-amylase, avec des valeurs CI_{50} de 0,351 ± 0,04 mg/mL, 0,337 ± 0,04 mg/mL et 0,300 ± 0,04 mg/mL, respectivement.

En ce qui concerne l'inhibition de l'α-glucosidase intestinale, un effet significatif a également été enregistré pour les trois HEs testées, avec des valeurs CI_{50} de 0,258 ± 0,04 mg/mL, 0,274 ± 0,01 mg/mL et 0,302 ± 0,01 mg/mL pour les HEs de *L. stoechas*, *M. suaveolens*, *A. visnaga*, respectivement.

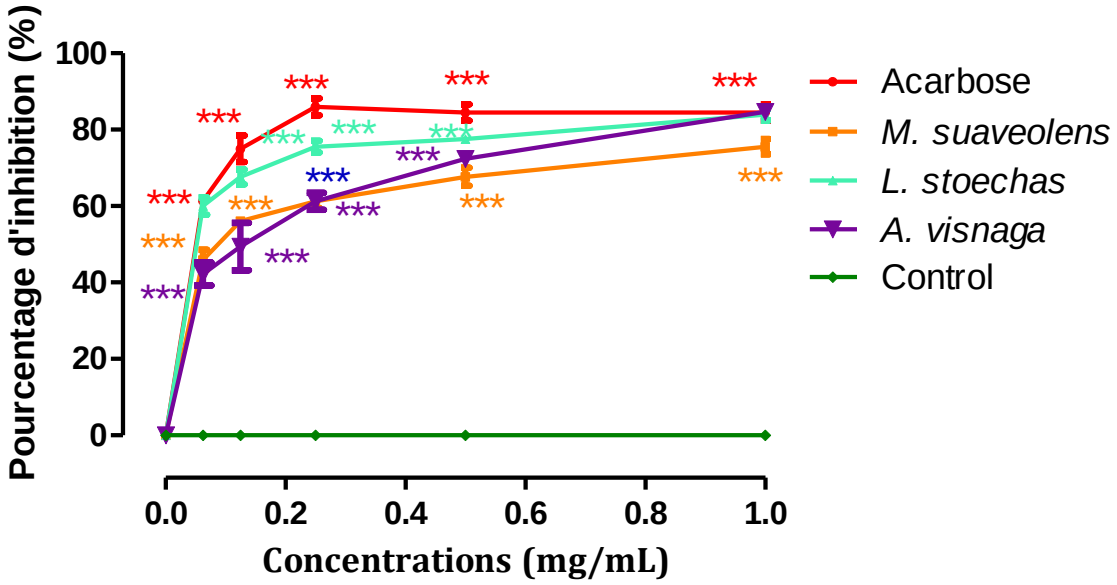


Figure 41. Effet inhibiteur des HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga*, *L. stoechas* et de l'acarbose contre l'enzyme α-amylase. Les valeurs sont exprimées par moyenne ± l'écart-type (n = 3). **$p < 0,01$, ***$p < 0,001$ en fonction du contrôle.

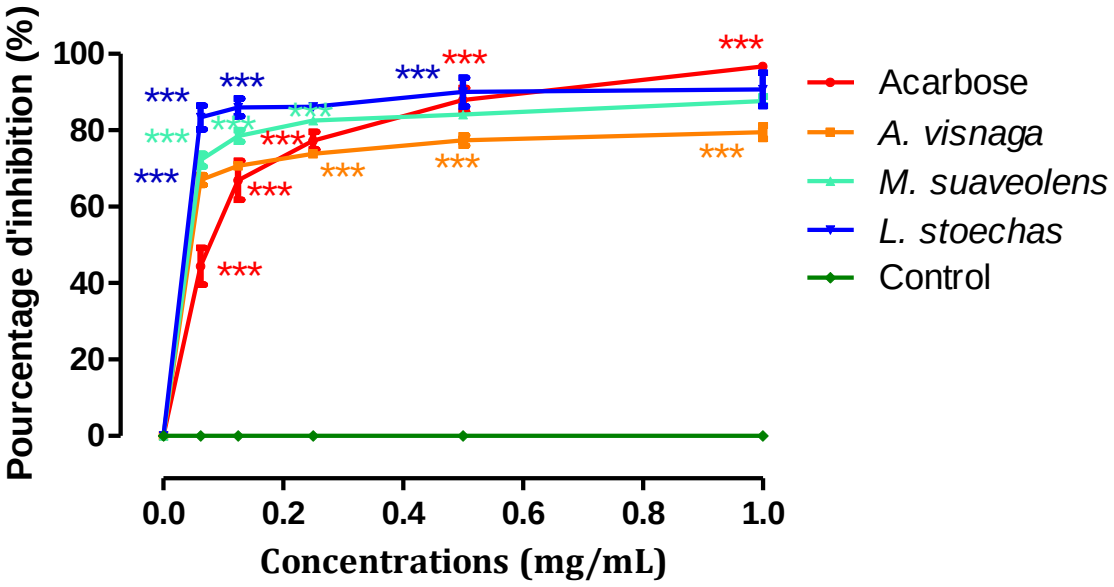


Figure 42. Effet inhibiteur des HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga*, *L. stoechas* et de l'acarbose contre l'enzyme α-glucosidase. Les valeurs sont exprimées par moyenne ± l'écart-type (n = 3). ***p* < 0,01, ****p* < 0,001 en fonction du contrôle.

Tableau 24. Valeurs de CI_{50} des HEs testées et de l'acarbose contre l'activité enzymatique de α-amylase pancréatique.

Huiles et standard	CI_{50} (mg/mL)
M. suaveolens	0,351 ± 0,04
A. visnaga	0,337 ± 0,04
L. stoechas	0,300 ± 0,008
Acarbose	0,306 ± 0,03

Les données sont exprimées par moyenne de trois répétitions (n=3) avec ± l'écart-type.

Tableau 25. Valeurs de CI_{50} des HEs testées et de l'acarbose contre l'activité enzymatique de α-glucosidase intestinale.

Huiles et standard	CI_{50} (mg/mL)
M. suaveolens	0,274 ± 0,01
A. visnaga	0,302 ± 0,01
L. stoechas	0,258 ± 0,04
Acarbose	0,281 ± 0,02

Les données sont exprimées par moyenne de trois répétitions (n=3) avec ± l'écart-type.

Au vu de ces résultats, les HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga* et *L. stoechas* ont exercé des actions antidiabétiques notables contre les deux enzymes testées. Al-Mijalli et al. (2022) ont rapporté que l'HE de *M. suaveolens* réprime les activités des enzymes α-amylase et α-glucosidase à de faibles concentrations par rapport à l'acarbose (médicament standard) avec une valeur CI_{50} égale à 94,30 ± 0,06 µg/mL et 141,16 ± 0,21 µg/mL, pour l'inhibition de l'activité de l'α-amylase et de l'α-glucosidase, respectivement.

Des études antérieures ont également indiqué qu'*A. visnaga* présente d'importantes propriétés anti-hyperglycémiques (Hilmi et al., 2014; Khalil et al., 2020; Mustafa et al., 2019). En effet, l'administration d'un extrait aqueux *d'A. visnaga* a démontré une activité hypoglycémique remarquable sur des rats normaux et diabétiques à la streptozotocine (Jouad et al., 2002). De plus, une décoction de fruits d'*A. visnaga* a réduit les niveaux de glycémie de 51 % chez des rats normaux, par rapport au tolbutamide, un médicament hypoglycémiant oral (Talaat et al., 2014).

Une étude récente a évalué le pouvoir inhibiteur de l'HE de *Lavandula angustifolia* sur l'enzyme α-glucosidase. Il s'est avéré que l'HE étudiée était capable d'inhiber cette enzyme avec une CI_{50} de 609,44 µg/mL, par rapport à l'acarbose avec une CI_{50} de 526,5 µg/mL (Najibullah et al., 2021). Il a également été montré que l'ingestion de petites concentrations d'extrait hydroalcoolique de *L. stoechas* à des doses entre 50 et 150 mg/kg de poids corporel à des souris diabétiques a considérablement minimisé l'hyperglycémie de manière dose-dépendante (Mustafa et al., 2019).

Notre étude a établi que les HEs de *M. suaveolens*, *A. visnaga* et *L. stoechas* présentent de forts effets inhibiteurs contre les enzymes α-amylase et α-glucosidase. Cette action antidiabétique significative est probablement due à leurs constituants bioactifs. À cet égard, la composition chimique des trois HEs a révélé une richesse en composés monoterpénoïdes, tels que le pulégone, le linalol, le camphène, le limonène, le camphre, l'α- et le β-pinène, le 1,8-cinéole et la fenchone, qui ont généralement des propriétés antihyperglycémiques, antioxydantes et anti-inflammatoires puissantes (Al Kury et al., 2021; de Alvarenga et al., 2023; Habtemariam, 2017; Kaur et al., 2019).

De plus, il a été démontré que les composés monoterpéniques augmentent la libération d'insuline par les cellules β du pancréas, diminuent le stress oxydatif cellulaire et atténuent les enzymes, les protéines et les voies qui pourraient conduire à de nombreux événements pathologiques (Al Kury et al., 2021; Kaur et al., 2019; Madhuri and Naik, 2017; Tunnisa et al., 2022; Z.-W. Wang et al., 2021).

Ainsi, les molécules de monoterpènes semblent être des agents prometteurs pour traiter les troubles métaboliques tels que le diabète. En effet, Sebai et al. (2013) ont suggéré que la fenchone pourrait être responsable des effets protecteurs de l'HE de lavande contre le diabète induit par le traitement à l'alloxane chez les rats, étant donné qu'elle représente le principal composé de cette huile. Une étude a également révélé que le camphre un autre composé monoterpénique, possède une activité hypoglycémique (Drikvandi et al., 2020).

En effet, l'administration intra-gastrique de camphre à des rats hyperglycémiques pendant trois semaines a réduit leur taux de glucose sanguin, de triglycérides et de cholestérol total. Une étude récente a montré que le linalol exerce des effets bénéfiques sur le métabolisme du glucose et des lipides. Il peut également réduire le risque de développer des complications vasculaires du diabète en améliorant les systèmes de défense antioxydants et les propriétés anti-glycation (Mahdavifard and Nakhjavani, 2020). De plus, le limonène a démontré également une inhibition de 85,61 % de la glycation des protéines à 100 µM, par rapport à l'aminoguanidine, le contrôle positif, qui a démontré une inhibition de 88,02 % à une concentration de 1 mM (More et al., 2014).

Par ailleurs, des essais in vivo ont prouvé une baisse de la glycémie, une amélioration du profil lipidique et de l'hémoglobine glyquée (More et al., 2014). Une autre étude a indiqué une augmentation du taux de glucose plasmatique et une diminution du taux d'insuline chez des rats diabétiques traités avec du limonène (Murali and Saravanan, 2012).

Peng et al. (2009) ont constaté que les HEs contenant du limonène peuvent stimuler la sécrétion d'insuline dans les cellules β du pancréas. Ainsi, la capacité du limonène à réduire de manière significative les niveaux de glucose plasmatique à jeun chez les rats diabétiques peut être due à la potentialisation de la sécrétion d'insuline à partir des îlots β-cellulaires existants, qui à son tour, augmente l'utilisation du glucose par les tissus.

Il est également apparu que la supplémentation en acide butyrique (à une dose de 500 mg/kg de poids corporel/jour) a amélioré de manière significative l'activité modérée des enzymes au cours du diabète et réduit la peroxydation des lipides chez les rats hyperglycémiques (Kumar et al., 2010).

En effet, les mécanismes des actions antidiabétiques *in vitro* des HEs sont peu discutés ; cependant, quelques études de docking moléculaire ont montré que certains composés volatils peuvent se lier fortement aux sites actifs de l'α-amylase et de l'α-glucosidase pour bloquer leur activité (Mahnashi et al., 2022).

Par conséquent, les HEs étudiées peuvent empêcher l'absorption des glucides, ralentir la digestion du glucose et, ainsi, diminuer le taux de sucre dans le sang. Les résultats de l'étude actuelle sont très significatifs et suggèrent que les huiles essentielles peuvent être en mesure de lutter contre le diabète. Toutefois, d'autres recherches sont nécessaires pour étayer cette hypothèse.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Grâce à son climat méditerranéen et à sa diversité écologique, le Maroc présente une large gamme de végétation, parmi laquelle se trouvent de nombreuses plantes médicinales. Les plantes médicinales demeurent une ressource incontestable de composés actifs renommés pour leurs vertus thérapeutiques, en particulier les huiles essentielles qui renferment des constituants actifs prisés à des fins médicinales, alimentaires, et cosmétiques.

Les investigations sur les propriétés biologiques des plantes médicinales au Maroc ont connu une augmentation significative. Cela démontre que les composés extraits de ces plantes sont très prometteurs, que ce soit pour leur utilisation en tant que thérapie alternative ou comme base pour l'élaboration de nouveaux agents thérapeutiques.

L'objectif primordial assigné par ce présent travail est d'approfondir les connaissances sur huiles essentielles de trois plantes aromatiques et médicinales, à savoir *Mentha suaveolens*, *Lavandula stoechas* et *Ammi visnaga* afin de découvrir des nouvelles substances naturelles qui pourraient servir d'appui pour :

- Contribuer à lutter contre l'émergence des souches microbiennes multi-résistantes.
- Servir comme des alternatives naturelles aux antioxydants synthétiques qui deviennent de plus en plus nocifs pour la santé humaine.
- Développer des formulations pour éradiquer les bactéries planctoniques et leurs biofilms préformés à la surface de l'acier inoxydable (304L SS).

Dans cette étude, nous avons procédé à l'évaluation de la composition chimique et les effets antimicrobiens, anti-biofilms, antioxydants et antidiabétiques de trois huiles essentielles issus des plantes originaires du Nord-Est du Maroc, ainsi qu'une étude sur l'effet antibactérien et anti-biofilm des mélanges ternaires des HEs étudiées à l'aide d'une méthodologie de conception de mélanges.

Ainsi, dans un premier temps, l'analyse de composition chimique des trois HEs obtenues par hydrodistillation à travers la chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie en masse (CPG-MS) indique une composition très complexe, constituée de plusieurs dizaines de composés aves des teneurs remarquables en monoterpènes (linalol, fenchone, camphre, camphène D-limonène et β-ocimène) dans le profile chimique de chaque huile.

Dans un second temps, l'étude de l'effet antibactérien par les méthodes de diffusion par disque, et micro-dilution (CMI, CMB) a montré que les trois HEs étudiées possèdent des effets bactéricides vis-à-vis les bactéries à Gram positifs et les bactéries à Gram négatifs. Cependant une sensibilité Gram-dépendant a été également observée. Ensuite, les HEs étudiées ont révélé un potentiel antimicrobien important contre les espèces de *Candida* et les mycobactéries.

Dans la deuxième partie de cette étude, nous avons procédé à l'évaluation de l'effet antibactérien combiné de trois HEs à l'aide de plan d'expériences. Il convient de noter que les mélanges des HEs ont donné de meilleurs résultats que ceux obtenus avec des huiles individuelles. Par conséquent, l'application d'un modèle de conception de mélange s'est avérée efficace.

Ensuite, nous avons testé l'effet antibiofilm / antiadhésif des HEs étudiées et leurs formulations optimales, c'est-à-dire les mélanges qui ont montré la meilleur efficacité (CMIs les plus faibles) contre la formation de biofilm de *S. aureus* (27 % de l'HE de *M. suaveolens*, 43 % de l'HE d'*A. visnaga* et 30 % de l'HE de *L. stoechas*) et *P. aeruginosa* (50 % de l'HE d'*A. visnaga* et de 50 % de l'HE de *L. stoechas*) à la surface de l'acier inoxydable 304L. Les résultats ont montré que les formulations sont plus efficaces contre l'adhésion des deux souches bactériennes que les huiles seules. L'inhibition de l'adhésion bactérienne pourrait être expliquée par le fait que le traitement par les HEs, en particulier les mélanges a altéré les propriétés physico-chimiques de la surface de l'acier inoxydable 304L. En outre, l'efficacité des propriétés anti-adhésives des mélanges optimaux contre les cellules planctoniques ou les biofilms peuvent être explique per l'effet synergique entre ces trois HEs.

En effet, les formulations développées dans cette étude peuvent être utilisés comme alternative aux antibiotiques conventionnels, qui deviennent de plus en plus inefficaces contre certaines souches résistantes responsables de pathologies graves en médecine et de la détérioration de la qualité nutritionnelle dans l'industrie alimentaire.

Dans la troisième partie, la capacité antioxydante des HEs a été examinée à l'aide de quatre tests complémentaires, à savoir les tests DPPH, ABTS, pouvoir réducteur, et β-carotène. Les résultats ont montré que les HEs étudiées possèdent des effets antioxydants avec des degrés différents du pouvoir anti-radicalaire, réducteur et protecteur de peroxydation de lipides.

Enfin, notre étude a été achevée par l'évaluation de l'activité antidiabétique des trois HEs étudiées à travers leurs actions inhibitrices des activités enzymatiques de l'α-amylase et de l'α-glucosidase. Les résultats ont révélé que toutes les HEs peuvent restreindre les activités des enzymes, l'α-amylase et de l'α-glucosidase à des faibles doses comparées à l'agent standard utilisé (acarbose). L'ensemble des résultats reportés lors de cette étude pourrait constituer une justification scientifique de l'utilisation traditionnelle de *Mentha suaveolens*, *Lavandula stoechas* et *A. visnaga* et une confirmation de leurs potentiels thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies.

À la suite de cette étude, plusieurs avenues de recherche émergent, notamment en ce qui concerne le mécanisme d'action antibactérien des HEs, ainsi que leur application dans divers domaines, en particulier dans l'industrie agro-alimentaire en tant qu'agents antioxydants et antimicrobiens. Il serait donc pertinent d'envisager les actions suivantes :

- Evaluer les aspects toxicologiques et pharmacocinétiques des HEs testées pour vérifier leur innocuité et leur efficacité.
- Utiliser les formulations développées par le plan d'expériences contre d'autres souches microbiennes, en ciblant d'autres mécanismes.
- Poursuivre la recherche pour étudier plus en détail les effets anti-biofilms des HEs, en particulier sur des biofilms formés par d'autres souches bactériennes, des biofilms multimicrobiens, et de les tester sur des matrices alimentaires ou des biofilms adhérés à d'autres matériaux que l'acier inoxydable.
- Mener une analyse détaillée du mécanisme d'action des HEs étudiées afin d'obtenir une compréhension plus approfondie et précise. Il serait donc intéressant d'explorer divers indicateurs qui permettront de suivre différentes activités métaboliques et d'observer l'impact des HEs sur des fonctions ou structures cellulaires, tels que l'activité respiratoire, l'activité des pompes membranaires, l'activité enzymatique, les modifications de la structure cellulaire ou les réponses physiologiques.
- Élargir cette étude en conduisant des évaluations *in vivo* des HEs étudiées pour confirmer les activités biologiques qu'elles ont démontrées.

Références bibliographiques

Abdallah, E.M., 2016. Antibacterial activity of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces against hospital isolates of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. Journal of Acute Disease 5, 512–516.

Abdallah, E.M., 2011. Plants: An alternative source for antimicrobials. Journal of Applied Pharmaceutical Science 16–20.

Abdellatif, A.A., Alhathloul, S.S., Aljohani, A.S., Maswadeh, H., Abdallah, E.M., Hamid Musa, K., El Hamd, M.A., 2022. Green synthesis of silver nanoparticles incorporated aromatherapies utilized for their antioxidant and antimicrobial activities against some clinical bacterial isolates. Bioinorganic Chemistry and Applications 2022.

Abebe, G.M., 2020. The role of bacterial biofilm in antibiotic resistance and food contamination. International journal of microbiology 2020.

Achinas, S., Charalampogiannis, N., Euverink, G.J.W., 2019. A brief recap of microbial adhesion and biofilms. Applied sciences 9, 2801.

Adams, R.P., 2017. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. Texensis Publishing.

Adams, R.P., 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured publishing corporation.

Ahlqvist, E., Storm, P., Käräjämäki, A., Martinell, M., Dorkhan, M., Carlsson, A., Vikman, P., Prasad, R.B., Aly, D.M., Almgren, P., 2018. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. The lancet Diabetes & endocrinology 6, 361–369.

Ahmad, W., Ansari, M.A., Yusuf, M., Amir, M., Wahab, S., Alam, P., Alomary, M.N., Alhuwayri, A.A., Khan, M., Ali, A., 2022b. Antibacterial, Anticandidal, and Antibiofilm Potential of Fenchone: In Vitro, Molecular Docking and In Silico/ADMET Study. Plants 11, 2395.

Ahmady- Asbchin, S., Nasrolahi Omran, A., Jafari, N., Mostafapour, M., Kia, S.M., 2012. Antibacterial effects of *Lavandula stoechas* Essential Oil, on Gram Positive and Negative Bacteria. mljgoums 6, 35–41.

Ahmed, A.F., Attia, F.A., Liu, Z., Li, C., Wei, J., Kang, W., 2019. Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. Food Science and Human Wellness 8, 299–305.

Ahmed, S.S., Fahim, J.R., Youssif, K.A., AboulMagd, A.M., Amin, M.N., Abdelmohsen, U.R., Hamed, A.N.E., 2022. Metabolomics of the secondary metabolites of *Ammi visnaga* L. roots (family Apiaceae) and evaluation of their biological potential. South African Journal of Botany 149, 860–869.

Ajjoun, M., Kharchoufa, L., Merrouni, I.A., Elachouri, M., 2022. Moroccan medicinal plants traditionally used for the treatment of skin diseases: From ethnobotany to clinical trials. Journal of Ethnopharmacology 115532.

Akaberi, M., Tayarani-Najaran, Z., Mehregan, I., Asili, J., Sahebkar, A., Hassanzadeh-Khayyat, M., Emami, S.A., 2020. Review of the essential oil composition of Iranian endemic and native taxa of Apiaceae (Umbelliferae). Curr. Org. Chem 24, 909–1009.

Références bibliographiques

Akram, R., Iqbal, R., Hussain, R., Jabeen, F., Ali, M., 2021. Evaluation of Oxidative stress, antioxidant enzymes and genotoxic potential of bisphenol A in fresh water bighead carp (Aristichthys nobils) fish at low concentrations. Environmental Pollution 268, 115896. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115896

Al Kury, L.T., Abdoh, A., Ikbariah, K., Sadek, B., Mahgoub, M., 2021. In vitro and in vivo antidiabetic potential of monoterpenoids: An update. Molecules 27, 182.

Alam, S., Anjum, N., Akhtar, J., Bashir, F., 2018. Pharmacological investigation on Khella (Ammi vinaga L.). World Journal of Pharmaceutical Research 7, 212–224.

Alanis, A.J., 2005. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? Archives of medical research 36, 697–705.

Aldogman, B., Bilel, H., Moustafa, S.M.N., Elmassary, K.F., Ali, H.M., Alotaibi, F.Q., Hamza, M., Abdelgawad, M.A., El-Ghorab, A.H., 2022. Investigation of Chemical Compositions and Biological Activities of *Mentha suaveolens* L. from Saudi Arabia. Molecules 27, 2949. https://doi.org/10.3390/molecules27092949

Alibi, S., Selma, W.B., Ramos-Vivas, J., Smach, M.A., Touati, R., Boukadida, J., Navas, J., Mansour, H.B., 2020. Anti-oxidant, antibacterial, anti-biofilm, and anti-quorum sensing activities of four essential oils against multidrug-resistant bacterial clinical isolates. Current Research in Translational Medicine 68, 59–66.

Alizadeh, A., Khoshkhui, M., Javidnia, K., Firuzi, O., Tafazoli, E., Khalighi, A., 2010. Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L.(Lamiaceae) cultivated in Iran. Journal of Medicinal Plants Research 4, 33–40.

Al-Mijalli, S.H., Assaggaf, H., Qasem, A., El-Shemi, A.G., Abdallah, E.M., Mrabti, H.N., Bouyahya, A., 2022. Antioxidant, Antidiabetic, and Antibacterial Potentials and Chemical Composition of *Salvia officinalis* and *Mentha suaveolens* Grown Wild in Morocco. Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences 2022, 1–10. https://doi.org/10.1155/2022/2844880

Al-Mijalli, S.H., Mrabti, H.N., Hachlafi, N.E., Kamili, T.E., Elbouzidi, A., Abdallah, E.M., Flouchi, R., Assaggaf, H., Qasem, A., Zengin, G., Bouyahya, A., Chahdi, F.O., 2023. Integrated analysis of antimicrobial, antioxidant, and phytochemical properties of *Cinnamomum verum*: A comprehensive In vitro and In silico study. Biochemical Systematics and Ecology 110, 104700. https://doi.org/10.1016/j.bse.2023.104700

ALrajhi, M., Al-Rasheedi, M., Eltom, S.E.M., Alhazmi, Y., Mustafa, M.M., Ali, Al.M., 2019. Antibacterial activity of date palm cake extracts (*Phoenix dactylifera*). Cogent Food & Agriculture 5, 1625479.

Al-Snafi, A.E., 2013. Chemical constituents and pharmacological activities of Ammi majus and Ammi visnaga. A review. International Journal of Pharmacy and Industrial Research 3, 257–265.

Altun, M., Yapici, B.M., 2022. Determination of chemical compositions and antibacterial effects of selected essential oils against human pathogenic strains. Anais da Academia Brasileira de Ciências 94, e20210074.

Références bibliographiques

Álvarez-González, B., Porras-Quesada, P., Arenas-Rodríguez, V., Tamayo-Gómez, A., Vázquez-Alonso, F., Martínez-González, L.J., Hernández, A.F., Álvarez-Cubero, M.J., 2023. Genetic variants of antioxidant and xenobiotic metabolizing enzymes and their association with prostate cancer: A meta-analysis and functional in silico analysis. Science of The Total Environment 898, 165530. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165530

Álvarez-Martínez, F.J., Barrajón-Catalán, E., Herranz-López, M., Micol, V., 2021. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. Phytomedicine 90, 153626.

Aminov, R.I., 2010. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. Frontiers in microbiology 1, 134.

Amorati, R., Foti, M.C., Valgimigli, L., 2013. Antioxidant activity of essential oils. Journal of agricultural and food chemistry 61, 10835–10847.

Angane, M., Swift, S., Huang, K., Butts, C.A., Quek, S.Y., 2022. Essential oils and their major components: an updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. Foods 11, 464.

Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., 2006. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. *ssp. stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. Journal of agricultural and food chemistry 54, 4364–4370.

Anthony, K.P., Deolu-Sobogun, S.A., Saleh, M.A., 2012. Comprehensive assessment of antioxidant activity of essential oils. Journal of Food Science 77, C839–C843.

Aourabi, S., Driouch, M., Ammor, K., Sfaira, M., Touhami, M.E., Mahjoubi, F., 2018. Evaluation of anticorrosion and antioxidant activities of ethanolic extract of *Ammi visnaga*. Anal Bioanal Electrochem 10, 912–929.

Aprotosoaie, A.C., Gille, E., Trifan, A., Luca, V.S., Miron, A., 2017. Essential oils of *Lavandula* genus: a systematic review of their chemistry. Phytochemistry Reviews 16, 761–799.

Arunasri, K., Mohan, S.V., 2019. Chapter 2.3 - Biofilms: Microbial Life on the Electrode Surface, in: Mohan, S.V., Varjani, S., Pandey, A. (Eds.), Microbial Electrochemical Technology. Elsevier, pp. 295–313. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64052-9.00011-X

Aruoma, O.I., 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. Journal of the American oil chemists' society 75, 199–212.

Asghari, J., Sadani, S., Ghaemi, E., Mazaheri Tehrani, M., 2016. Investigation of Composition and Antimicrobial Properties of *Lavandula stoechas* Essential Oil Using Disk Diffusion and Broth Microdilution. Medical Laboratory Journal 10.

Augereau, F., Despaux, G., 2000. Materials microstructure and acoustic microscopy: non destructive local measurement of mechanical parameters (application to 304L stainless steel damaging study); Microstructure des materiaux par microscopie acoustique: mesure locale non destructive de parametres mecaniques (application a l'etude de l'endommagement de l'acier inoxydable 304L). Materiaux et Techniques.

Ayaz, A., Zaman, W., Ullah, F., Saqib, S., Jamshed, S., Bahadur, S., Shakoor, A., Arshad, B., 2020. Systematics study through scanning electron microscopy; a tool for the authentication of

herbal drug *Mentha suaveolens* Ehrh. Microscopy Res & Technique 83, 81–87. https://doi.org/10.1002/jemt.23391

Azzazy, M.F., 2016. Systematic importance of pollen morphology of some plants of (Lamiaceae). Current Botany 7, 5–10.

Bachiri, L., Bouchelta, Y., Bouiamrine, E.H., Echchegadda, G., Ibijbijen, J., Nassiri, L., 2018. Valorization as bioinsecticide of the essential oils of two indigenous lavender species in Morocco: *Lavandula stoechas* and *Lavandula pedunculata*. Int. J. Herb. Med 6, 86–90.

Badalamenti, N., Ilardi, V., Rosselli, S., Bruno, M., Maggi, F., Leporini, M., Falco, T., Loizzo, M.R., Tundis, R., 2020. *Ferulago nodosa subsp. geniculata* (Guss.) Troia & Raimondo from Sicily (Italy): Isolation of essential oil and evaluation of its bioactivity. Molecules 25, 3249.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils–a review. Food and chemical toxicology 46, 446–475.

Balahbib, A., El Omari, N., Hachlafi, N.E., Lakhdar, F., El Menyiy, N., Salhi, N., Mrabti, H.N., Bakrim, S., Zengin, G., Bouyahya, A., 2021. Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. Food and Chemical Toxicology 153, 112259.

Baldwin, T.A., Oberbauer, S.F., 2022. Essential oil content of *Rhododendron tomentosum* responds strongly to manipulation of ecosystem resources in Arctic Alaska. Arctic Science 8, 916–934.

Balouiri, M., Sadiki, M., Ibnsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of pharmaceutical analysis 6, 71–79.

Baptista, R., Madureira, A.M., Jorge, R., Adão, R., Duarte, A., Duarte, N., Lopes, M.M., Teixeira, G., 2015. Antioxidant and antimycotic activities of two native *Lavandula* species from Portugal. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2015.

Baptista-Silva, S., Borges, S., Ramos, O.L., Pintado, M., Sarmento, B., 2020. The progress of essential oils as potential therapeutic agents: A review. Journal of Essential Oil Research 32, 279–295.

Barbosa, L.N., Alves, F.C.B., Andrade, B.F.M.T., Albano, M., Rall, V.L.M., Fernandes, A.A.H., Buzalaf, M.A.R., de Lima Leite, A., de Pontes, L.G., Dos Santos, L.D., 2020. Proteomic analysis and antibacterial resistance mechanisms of *Salmonella Enteritidis* submitted to the inhibitory effect of Origanum vulgare essential oil, thymol and carvacrol. Journal of proteomics 214, 103625.

Bassolé, I.H.N., Juliani, H.R., 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. Molecules 17, 3989–4006.

Bassolé, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Tirogo, S., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C., Dicko, M.H., 2010. Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. Molecules 15, 7825–7839.

Bellakhdar, J., 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médicine arabe ancienne et savoirs populaires.

Références bibliographiques

Bello, R., Calatayud, S., Beltran, B., Primo-Yúfera, E., Esplugues, J., 2001. Cardiovascular effects of the methanol and dichloromethanol extracts from *Mentha suaveolens* Ehrh. Phytotherapy Research 15, 447–448.

Ben Farhat, M., Jordan, M.J., Chaouech-Hamada, R., Landoulsi, A., Sotomayor, J.A., 2009. Variations in essential oil, phenolic compounds, and antioxidant activity of tunisian cultivated *Salvia officinalis* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57, 10349–10356.

Benabdelkader, T., Zitouni, A., Guitton, Y., Jullien, F., Maitre, D., Casabianca, H., Legendre, L., Kameli, A., 2011. Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties. Chemistry & biodiversity 8, 937–953.

Benali, T., Bouyahya, A., Habbadi, K., Zengin, G., Khabbach, A., Achbani, E.H., Hammani, K., 2020. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and extracts of *Cistus ladaniferus subsp*. ladanifer and *Mentha suaveolens* against phytopathogenic bacteria and their ecofriendly management of phytopathogenic bacteria. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 28, 101696. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101696

Benali, T., Lemhadri, A., Harboul, K., Chtibi, H., Khabbach, A., Jadouali, S.M., Quesada-Romero, L., Louahlia, S., Hammani, K., Ghaleb, A., 2023. Chemical Profiling and Biological Properties of Essential Oils of *Lavandula stoechas* L. Collected from Three Moroccan Sites: In Vitro and In Silico Investigations. Plants 12, 1413.

Bencheikh, N., Elbouzidi, A., Kharchoufa, L., Ouassou, H., Alami Merrouni, I., Mechchate, H., Es-Safi, I., Hano, C., Addi, M., Bouhrim, M., 2021. Inventory of medicinal plants used traditionally to manage kidney diseases in north-eastern Morocco: Ethnobotanical fieldwork and pharmacological evidence. Plants 10, 1966.

Bencheraiet, R., Kherrab, H., Kabouche, A., Kabouche, Z., Maurice, J., 2011. Flavonols and antioxidant activity of *Ammi visnaga* L.(Apiaceae). Records of Natural Products 5, 52.

Benítez, G., González-Tejero, M.R., Molero-Mesa, J., 2010. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. Journal of Ethnopharmacology 129, 87–105.

Benkhaira, N., Koraichi, S.I., Fikri-Benbrahim, K., 2022. In vitro methods to study antioxidant and some biological activities of essential oils: a review. Biointerface Res. Appl. Chem 12, 3332.

Bergman, M.E., Davis, B., Phillips, M.A., 2019. Medically useful plant terpenoids: biosynthesis, occurrence, and mechanism of action. Molecules 24, 3961.

Bhattacharya, S., 2015. Reactive oxygen species and cellular defense system. Free radicals in human health and disease 17–29.

Bhavaniramya, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M.S., Vijayakumar, R., Baskaran, D., 2019a. Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. Grain & oil science and technology 2, 49–55.

Références bibliographiques

Bhavaniramya, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M.S., Vijayakumar, R., Baskaran, D., 2019b. Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. Grain & oil science and technology 2, 49–55.

Biltekin, S.N., Karadağ, A.E., Demirci, B., Demirci, F., 2022. ACE2 and LOX Enzyme Inhibitions of Different Lavender Essential Oils and Major Components Linalool and Camphor. ACS omega 7, 36561–36566.

Bonet, M.À., Valles, J., 2007. Ethnobotany of Montseny biosphere reserve (Catalonia, Iberian Peninsula): plants used in veterinary medicine. Journal of Ethnopharmacology 110, 130–147.

Borella, L., Salogni, C., Vitale, N., Scali, F., Moretti, V.M., Pasquali, P., Alborali, G.L., 2020. Motile aeromonads from farmed and wild freshwater fish in northern Italy: An evaluation of antimicrobial activity and multidrug resistance during 2013 and 2016. Acta Veterinaria Scandinavica 62, 1–8.

Boren, K., Crown, A., Carlson, R., 2020. Multidrug and pan-antibiotic resistance—the role of antimicrobial and synergistic essential oils: a review. Natural Product Communications 15, 1934578X20962595.

Bouhrim, M., Daoudi, N.E., Ouassou, H., Benoutman, A., Loukili, E.H., Ziyyat, A., Mekhfi, H., Legssyer, A., Aziz, M., Bnouham, M., 2020. Phenolic content and antioxidant, antihyperlipidemic, and antidiabetogenic effects of Opuntia dillenii seed oil. The Scientific World Journal 2020.

Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Benassel, N., Kameli, A., 2020. Lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.): une plante à parfum aux multiples vertus. Phytothérapie 18, 30–44.

Boukhebti, H., Chaker, A.N., Belhadj, H., Sahli, F., Ramdhani, M., Laouer, H., Harzallah, D., 2011. Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. Der Pharmacia Lettre 3, 267–275.

Boutabia, L., Telailia, S., Guenadil, F., Chefrour, A., 2020. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Mentha pulegium* L. and *Mentha suaveolens* Ehrh. growing in North-East of Algeria. Analele Univ. din Oradea. Fasc. Biol 2, 143–148.

Boutahiri, S., Bouhrim, M., Abidi, C., Mechchate, H., Alqahtani, A.S., Noman, O.M., Elombo, F.K., Gressier, B., Sahpaz, S., Bnouham, M., Desjeux, J.-F., Zair, T., Eto, B., 2021. Antihyperglycemic Effect of *Lavandula pedunculata*: In Vivo, In Vitro and Ex Vivo Approaches. Pharmaceutics 13, 2019. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122019

Bouyahya, A., Assemian, I.C.C., Mouzount, H., Bourais, I., Et-Touys, A., Fellah, H., Benjouad, A., Dakka, N., Bakri, Y., 2019a. Could volatile compounds from leaves and fruits of Pistacia lentiscus constitute a novel source of anticancer, antioxidant, antiparasitic and antibacterial drugs? Industrial crops and products 128, 62–69.

Bouyahya, A., Belmehdi, O., El Jemli, M., Marmouzi, I., Bourais, I., Abrini, J., Faouzi, M.E.A., Dakka, N., Bakri, Y., 2019b. Chemical variability of *Centaurium erythraea* essential oils at three developmental stages and investigation of their in vitro antioxidant, antidiabetic, dermatoprotective and antibacterial activities. Industrial Crops and Products 132, 111–117.

Références bibliographiques

Bouyahya, A., Chamkhi, I., Benali, T., Guaouguaou, F.-E., Balahbib, A., El Omari, N., Taha, D., Belmehdi, O., Ghokhan, Z., El Menyiy, N., 2021. Traditional use, phytochemistry, toxicology, and pharmacology of *Origanum majorana* L. Journal of Ethnopharmacology 265, 113318.

Bouyahya, A., Et-Touys, A., Abrini, J., Talbaoui, A., Fellah, H., Bakri, Y., Dakka, N., 2017. *Lavandula stoechas* essential oil from Morocco as novel source of antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 12, 179–184. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.10.003

Bouyahya, A., Lagrouh, F., El Omari, N., Bourais, I., El Jemli, M., Marmouzi, I., Salhi, N., Faouzi, M.E.A., Belmehdi, O., Dakka, N., 2020. Essential oils of *Mentha viridis* rich phenolic compounds show important antioxidant, antidiabetic, dermatoprotective, antidermatophyte and antibacterial properties. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 23, 101471.

Bozkurt, İ.A., Soylu, S., Merve, K., Soylu, E.M., 2020. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils isolated from medicinal plants against gall forming plant pathogenic bacterial disease agents. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi 23, 1474–1482.

Bridier, A., Sanchez-Vizuete, P., Guilbaud, M., Piard, J.-C., Naitali, M., Briandet, R., 2015. Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. Food microbiology 45, 167–178.

Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology 94, 223–253.

Butala, M.A., Kukkupuni, S.K., Vishnuprasad, C.N., 2017. Ayurvedic anti-diabetic formulation Lodhrasavam inhibits alpha-amylase, alpha-glucosidase and suppresses adipogenic activity in vitro. Journal of Ayurveda and Integrative Medicine 8, 145–151.

Cantino, P.D., 1992. Evidence for a polyphyletic origin of the Labiatae. Annals of the Missouri Botanical Garden 361–379.

Carrasco, A., Ortiz-Ruiz, V., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., Tudela, J., 2015. *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. Industrial Crops and Products 73, 16–27. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.088

Carrió, E., Vallès, J., 2012. Ethnobotany of medicinal plants used in eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea). Journal of Ethnopharmacology 141, 1021–1040.

Cecerska-Heryć, E., Surowska, O., Heryć, R., Serwin, N., Napiontek-Balińska, S., Dołęgowska, B., 2021. Are antioxidant enzymes essential markers in the diagnosis and monitoring of cancer patients – A review. Clinical Biochemistry 93, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.03.008

Chaachouay, N., Benkhnigue, O., Fadli, M., El Ibaoui, H., El Ayadi, R., Zidane, L., 2019. Ethnobotanical and ethnopharmacological study of medicinal and aromatic plants used in the treatment of respiratory system disorders in the Moroccan Rif. Ethnobotany Research and Applications 18, 1–16.

Chaachouay, N., Benkhnigue, O., Zidane, L., 2022. Ethnobotanical and Ethnomedicinal study of medicinal and aromatic plants used against dermatological diseases by the people of Rif, Morocco. Journal of Herbal Medicine 32, 100542.

Chaudhury, A., Duvoor, C., Reddy Dendi, V.S., Kraleti, S., Chada, A., Ravilla, R., Marco, A., Shekhawat, N.S., Montales, M.T., Kuriakose, K., 2017. Clinical review of antidiabetic drugs: implications for type 2 diabetes mellitus management. Frontiers in endocrinology 8, 6.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., Abert-Vian, M., 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. Ultrasonics sonochemistry 34, 540–560.

Cheng, G., Zhang, Z., Chen, S., Bryers, J.D., Jiang, S., 2007. Inhibition of bacterial adhesion and biofilm formation on zwitterionic surfaces. Biomaterials 28, 4192–4199.

Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pagán, R., Laglaoui, A., 2014. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium, Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. Innovative Food Science & Emerging Technologies 22, 221–229. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.12.016

Chouhan, S., Sharma, K., Guleria, S., 2017. Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. Medicines 4, 58.

Chraibi, M., Fadil, M., Farah, A., Benkhaira, N., Lebrazi, S., Fikri-Benbrahim, K., 2023. Simplex-centroid design as innovative approach in the optimization of antimicrobial effect of *Thymus satureioides*, *Myrtus communis* and *Artemisia herba alba* essential oils against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida tropicalis*. Experimental Parasitology 247, 108472.

Chraibi, M., Fadil, M., Farah, A., Lebrazi, S., Fikri-Benbrahim, K., 2021. Antimicrobial combined action of *Mentha pulegium*, *Ormenis mixta* and *Mentha piperita* essential oils against S. *aureus, E. coli and C. tropicalis*: Application of mixture design methodology. LWT 145, 111352.

Chrysargyris, A., Mikallou, M., Petropoulos, S., Tzortzakis, N., 2020. Profiling of essential oils components and polyphenols for their antioxidant activity of medicinal and aromatic plants grown in different environmental conditions. Agronomy 10, 727.

Ciofu, O., Tolker-Nielsen, T., 2019. Tolerance and resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to antimicrobial agents—how P. aeruginosa can escape antibiotics. Frontiers in microbiology 10, 913.

Cnop, M., Vidal, J., Hull, R.L., Utzschneider, K.M., Carr, D.B., Schraw, T., Scherer, P.E., Boyko, E.J., Fujimoto, W.Y., Kahn, S.E., 2007. Progressive loss of β-cell function leads to worsening glucose tolerance in first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes. Diabetes care 30, 677–682.

Cos, P., Vlietinck, A.J., Berghe, D.V., Maes, L., 2006. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept.' Journal of ethnopharmacology 106, 290–302.

Cosentino, S., Tuberoso, C.I.G., Pisano, B., Satta, M.L., Mascia, V., Arzedi, E., Palmas, F., 1999. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian thymus* essential oils. Letters in applied microbiology 29, 130–135.

Costa, P., Grosso, C., Gonçalves, S., Andrade, P.B., Valentão, P., Bernardo-Gil, M.G., Romano, A., 2012. Supercritical fluid extraction and hydrodistillation for the recovery of bioactive compounds from *Lavandula viridis* L'Hér. Food Chemistry 135, 112–121.

Costa, P., Medronho, B., Gonçalves, S., Romano, A., 2015. Cyclodextrins enhance the antioxidant activity of essential oils from three Lamiaceae species. Industrial Crops and Products 70, 341–346.

Craft, K.M., Nguyen, J.M., Berg, L.J., Townsend, S.D., 2019. Methicillin-resistant S*taphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. MedChemComm 10, 1231–1241.

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, 822–880.

de Alvarenga, J.F.R., Genaro, B., Costa, B.L., Purgatto, E., Manach, C., Fiamoncini, J., 2023. Monoterpenes: current knowledge on food source, metabolism, and health effects. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 63, 1352–1389.

Debabov, D., 2013. Antibiotic resistance: Origins, mechanisms, approaches to counter. Applied biochemistry and microbiology 49, 665–671.

DeFronzo, R.A., 2009. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Diabetes 58, 773–795.

Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., Mnif, W., 2016. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. Medicines 3, 25. https://doi.org/10.3390/medicines3040025

DiMeglio, L.A., Evans-Molina, C., Oram, R.A., 2018. Type 1 diabetes. The Lancet 391, 2449–2462.

Diniz do Nascimento, L., Barbosa de Moraes, A.A., Santana da Costa, K., Pereira Galúcio, J.M., Taube, P.S., Leal Costa, C.M., Neves Cruz, J., de Aguiar Andrade, E.H., Guerreiro de Faria, L.J., 2020. Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants: New findings and potential applications. Biomolecules 10, 988.

Dong, Y., Lekbach, Y., Li, Z., Xu, D., El Abed, S., Koraichi, S.I., Wang, F., 2020. Microbiologically influenced corrosion of 304L stainless steel caused by an alga associated bacterium *Halomonas titanicae*. Journal of Materials Science & Technology 37, 200–206.

Dorman, H.D., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Deans, S.G., 2000. In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. Flavour and Fragrance Journal 15, 12–16.

Downie, S.R., Katz-Downie, D.S., Watson, M.F., 2000. A phylogeny of the flowering plant family Apiaceae based on chloroplast DNA rpl16 and rpoC1 intron sequences: towards a suprageneric classification of subfamily Apioideae. American Journal of Botany 87, 273–292.

Drikvandi, P., Bahramikia, S., Alirezaei, M., 2020. Modulation of the antioxidant defense system in liver, kidney, and pancreas tissues of alloxan-induced diabetic rats by camphor. Journal of Food Biochemistry 44, e13527.

Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M.-L., Jouad, H., 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). Journal of ethnopharmacology 82, 97–103.

Ed-Dra, A., Filali, F.R., Presti, V.L., Zekkori, B., Nalbone, L., Trabelsi, N., Bentayeb, A., Giuffrida, A., Giarratana, F., 2019. Evaluation of chemical composition, antioxidant and anti *listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* activity of the essential oil of *Mentha pulegium* and *Mentha suaveolens* collected in Morocco.

Eizirik, D.L., Pasquali, L., Cnop, M., 2020. Pancreatic β-cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure. Nat Rev Endocrinol 16, 349–362. https://doi.org/10.1038/s41574-020-0355-7

El Hachlafi, N., Benkhaira, N., Al-Mijalli, S.H., Mrabti, H.N., Abdnim, R., Abdallah, E.M., Jeddi, M., Bnouham, M., Lee, L.-H., Ardianto, C., 2023a. Phytochemical analysis and evaluation of antimicrobial, antioxidant, and antidiabetic activities of essential oils from Moroccan medicinal plants: *Mentha suaveolens, Lavandula stoechas*, and *Ammi visnaga*. Biomedicine & Pharmacotherapy 164, 114937.

El Hachlafi, N., Mrabti, H.N., Al-Mijalli, S.H., Jeddi, M., Abdallah, E.M., Benkhaira, N., Hadni, H., Assaggaf, H., Qasem, A., Goh, K.W., 2023b. Antioxidant, Volatile Compounds; Antimicrobial, Anti-Inflammatory, and Dermatoprotective Properties of *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti Ex Carriere Essential Oil: In Vitro and In Silico Investigations. Molecules 28, 5913.

El Hachlafi, N., Chebat, A., Bencheikh, R. S., Fikri-Benbrahim, K., 2020. Ethnopharmacological study of medicinal plants used for chronic diseases treatment in Rabat-Sale-Kenitra region (Morocco). Ethnobotany Research and Applications, 20, 1-23.

El Khomsi, M., Dandani, Y., Chaachouay, N., Hmouni, D., 2022. Ethnobotanical study of plants used for medicinal, cosmetic, and food purposes in the region of Moulay Yacoub, Northeast of Morocco. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research 10, 13–29.

El Omari, N., Charfi, S., Elmenyiy, N., El Hachlafi, N., Balahbib, A., Chamkhi, I., Bouyahya, A., 2022. Essential Oils for Combating Antimicrobial Resistance: Mechanism Insights and Clinical Uses. Antimicrobial Resistance: Underlying Mechanisms and Therapeutic Approaches 323–355.

El Omari, N., Sayah, K., Fettach, S., El Blidi, O., Bouyahya, A., Faouzi, M.E.A., Kamal, R., Barkiyou, M., 2019. Evaluation of in vitro antioxidant and antidiabetic activities of *Aristolochia longa* extracts. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2019.

El Yaagoubi, W., El Ghadraoui, L., Soussi, M., Ezrari, S., Belmalha, S., 2023. Large-scale ethnomedicinal inventory and therapeutic applications of medicinal and aromatic plants used extensively in folk medicine by the local population in the middle atlas and the plain of Saiss, Morocco. Ethnobotany Research and Applications 25, 1–29.

El-Kashoury, E.-S.A., El-Askary, H.I., Kandil, Z.A., Salem, M.A., 2013. Botanical and genetic characterization of *Mentha suaveolens* Ehrh. cultivated in Egypt. Pharmacognosy Journal 5, 228–237. https://doi.org/10.1016/j.phcgj.2013.10.002

El-Mokasabi, F.M., 2014. Floristic composition and traditional uses of plant species at Wadi Alkuf, Al-Jabal Al-Akhder, Libya. Am. Eur. J. Agric. Environ. Sci 14, 685–697.

El-Tarabily, K.A., El-Saadony, M.T., Alagawany, M., Arif, M., Batiha, G.E., Khafaga, A.F., Elwan, H.A., Elnesr, S.S., Abd El-Hack, M.E., 2021. Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. Saudi Journal of Biological Sciences 28, 5145–5156.

Elzaawely, A.A., Xuan, T.D., Koyama, H., Tawata, S., 2007. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burtt. & RM Sm. Food chemistry 104, 1648–1653.

Ez zoubi, Y., Bousta, D., Farah, A., 2020b. A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L. Clinical Phytoscience 6, 1–9.

Ezeorba, T.P.C., Chukwudozie, K.I., Ezema, C.A., Anaduaka, E.G., Nweze, E.J., Okeke, E.S., 2022. Potentials for health and therapeutic benefits of garlic essential oils: Recent findings and future prospects. Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine 3, 100075.

Ez-zoubi, A., Ez zoubi, Y., Ramzi, A., Fadil, M., El Ouali Lalami, A., Farah, A., 2022. Ethanol and glycerol green emulsifying solvent for the formation of a *Lavandula stoechas* essential oil/β-cyclodextrin inclusion complex: mixture design and adulticidal activity against Culex pipiens. Heliyon 8, e10204. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10204

Fadil, M., Lebrazi, S., Aboulghazi, A., Guaouguaou, F.-E., Rais, C., Slimani, C., Es-safi, N.E., 2022. Multi-response optimization of extraction yield, total phenols-flavonoids contents, and antioxidant activity of extracts from moroccan *Lavandula stoechas* leaves: Predictive modeling using simplex-centroid design. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 43, 102430. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102430

Fadili, K., Sekkate, C., Alistiqsa, F., Haloui, Z., Chakir, S., Zair, T., 2017. Ethnobotanical study of medicinal plants from Er-Rich region (Moroccan High Atlas). Advances in Environmental Biology 11, 27–41.

Fadli, M., Pagès, J.-M., Mezrioui, N.-E., Abbad, A., Hassani, L., 2016. Artemisia herba-alba Asso and *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf essential oils and their capability to restore antibiotics efficacy. Industrial Crops and Products 89, 399–404.

Fakchich, J., Elachouri, M., 2021. An overview on ethnobotanico-pharmacological studies carried out in Morocco, from 1991 to 2015: Systematic review (part 1). Journal of Ethnopharmacology 267, 113200.

Farias, A.P.P., Monteiro, O. dos S., da Silva, J.K.R., Figueiredo, P.L.B., Rodrigues, A.A.C., Monteiro, I.N., Maia, J.G.S., 2020. Chemical composition and biological activities of two chemotype-oils from *Cinnamomum verum* J. Presl growing in North Brazil. Journal of Food Science and Technology 57, 3176–3183.

Fazal, H., Akram, M., Ahmad, N., Qaisar, M., Kanwal, F., Rehman, G., Ullah, I., 2023. Nutritionally rich biochemical profile in essential oil of various *Mentha* species and their antimicrobial activities. Protoplasma 260, 557–570.

Feirouz, B., Salima, K.-G., 2014. Antibacterial activity and chemical composition of *Ammi visnaga* L. essential oil collected from Boumerdes (Algeria) during three periods of the plant growth. Journal of Essential Oil Bearing Plants 17, 1317–1328.

Flamini, G., Smaili, T., Zellagui, A., Gherraf, N., Cioni, P.L., 2013. Effect of Growth Stage on Essential-Oil Yield and Composition of *Daucus sahariensis*. Chemistry & biodiversity 10, 2014–2020.

Floyd, K.A., Eberly, A.R., Hadjifrangiskou, M., 2017. Adhesion of bacteria to surfaces and biofilm formation on medical devices, in: Biofilms and Implantable Medical Devices. Elsevier, pp. 47–95.

Forman, H.J., Zhang, H., 2021. Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy. Nature Reviews Drug Discovery 20, 689–709.

Gad, D., Mansour, H.E.A., Saad-Allah, K.M., Abdallah, M.S., Elberri, A.I., Mosalam, E.M., 2022. Biostimulants improve the hepatoprotection of *Ammi visnaga* seed yield extract against carbon tetrachloride induced acute hepatitis in mice through modulation of MAPK. Saudi Journal of Biological Sciences.

Gadisa, E., Weldearegay, G., Desta, K., Tsegaye, G., Hailu, S., Jote, K., Takele, A., 2019. Combined antibacterial effect of essential oils from three most commonly used Ethiopian traditional medicinal plants on multidrug resistant bacteria. BMC Complementary and Alternative Medicine 19, 1–9.

Gandhi, G.R., Hillary, V.E., Antony, P.J., Zhong, L.L., Yogesh, D., Krishnakumar, N.M., Ceasar, S.A., Gan, R.-Y., 2023. A systematic review on anti-diabetic plant essential oil compounds: Dietary sources, effects, molecular mechanisms, and safety. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 1–20.

Garcia, E.J., Oldoni, T.L.C., Alencar, S.M. de, Reis, A., Loguercio, A.D., Grande, R.H.M., 2012. Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. Brazilian dental journal 23, 22–27.

García-Sánchez, A., Miranda-Díaz, A.G., Cardona-Muñoz, E.G., 2020. The role of oxidative stress in physiopathology and pharmacological treatment with pro-and antioxidant properties in chronic diseases. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2020.

Garoy, E.Y., Gebreab, Y.B., Achila, O.O., Tekeste, D.G., Kesete, R., Ghirmay, R., Kiflay, R., Tesfu, T., 2019. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): prevalence and

antimicrobial sensitivity pattern among patients—a multicenter study in Asmara, Eritrea. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology 2019.

Gerdt, J.P., Blackwell, H.E., 2014. Competition studies confirm two major barriers that can preclude the spread of resistance to quorum-sensing inhibitors in bacteria. ACS chemical biology 9, 2291–2299.

Ghalbane, I., Alahyane, H., Aboussaid, H., Chouikh, N., Costa, J., Romane, A., El Messoussi, S., 2022. Chemical composition and insecticidal properties of Moroccan *Lavandula dentata* and *Lavandula stoechas* essential oils against Mediterranean fruit fly, Ceratitis capitata. Neotropical entomology 51, 628–636.

Giannenas, I., Sidiropoulou, E., Bonos, E., Christaki, E., Florou-Paneri, P., 2020. The history of herbs, medicinal and aromatic plants, and their extracts: Past, current situation and future perspectives, in: Feed Additives. Elsevier, pp. 1–18.

Gilani, A.H., Aziz, N., Khan, M.A., Shaheen, F., Jabeen, Q., Siddiqui, B.S., Herzig, J.W., 2000. Ethnopharmacological evaluation of the anticonvulsant, sedative and antispasmodic activities of *Lavandula stoechas* L. Journal of Ethnopharmacology 71, 161–167. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00198-1

Gill, A.O., Holley, R.A., 2006. Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. International journal of food microbiology 108, 1–9.

González, J.A., García-Barriuso, M., Amich, F., 2010. Ethnobotanical study of medicinal plants traditionally used in the Arribes del Duero, western Spain. Journal of Ethnopharmacology 131, 343–355.

Gonzalez-Duque, S., Azoury, M.E., Colli, M.L., Afonso, G., Turatsinze, J.-V., Nigi, L., Lalanne, A.I., Sebastiani, G., Carré, A., Pinto, S., 2018. Conventional and neo-antigenic peptides presented by β cells are targeted by circulating naïve CD8+ T cells in type 1 diabetic and healthy donors. Cell metabolism 28, 946-960. e6.

Gören, A.C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Aydoğmusç, Z., Pezzuto, J.M., 2002. The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas ssp. stoechas*. Zeitschrift für Naturforschung C 57, 797–800.

Guitton, Y., Nicolè, F., Jullien, F., Caissard, J.-C., Saint-Marcoux, D., Legendre, L., Pasquier, B., Moja, S., 2018. A comparative study of terpene composition in different clades of the genus *Lavandula*. Botany Letters 165, 494–505.

Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., Ozkan, H., 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. *ssp. longifolia*. Food chemistry 103, 1449–1456.

Gupta, P., Deka, S., 2018. The menace of antimicrobial resistance. Indian Journal of Community Health 30, 317–322.

Habtemariam, S., 2017. Antidiabetic potential of monoterpenes: A case of small molecules punching above their weight. International Journal of Molecular Sciences 19, 4.

Références bibliographiques

Hachlafi, N.E., Aanniz, T., Menyiy, N.E., Baaboua, A.E., Omari, N.E., Balahbib, A., Shariati, M.A., Zengin, G., Fikri-Benbrahim, K., Bouyahya, A., 2021. *In Vitro* and *in Vivo* Biological Investigations of Camphene and Its Mechanism Insights: A Review. Food Reviews International 1–28. https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1936007

Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of applied microbiology 86, 985–990.

Harley, R.M., Atkins, S., Budantsev, A.L., Cantino, P.D., Conn, B.J., Grayer, R., Harley, M.M., De Kok, R. de, Krestovskaja, T. de, Morales, R., 2004. Labiatae, in: Flowering Plants· Dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae Including Avicenniaceae). Springer, pp. 167–275.

Hashemi, S.M.B., Jafarpour, D., 2020. Synergistic properties of Eucalyptus caesia and *Dracocephalum multicaule* Montbr & Auch essential oils: Antimicrobial activity against food borne pathogens and antioxidant activity in pear slices. Journal of Food Processing and Preservation 44, e14651.

Hashim, S., Jan, A., Marwat, K.B., Khan, M.A., 2014. Phytochemistry and medicinal properties of *Ammi visnaga* (Apiacae). Pak J Bot 46, 861–7.

Hassanpouraghdam, M.B., Hassani, A., Vojodi, L., Asl, B.H., Rostami, A., 2011. Essential oil constituents of *Lavandula officinalis* Chaix. from Northwest Iran. chemija 22, 167–171.

Hassiotis, C.N., 2010. Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from *Lavandula stoechas* in Mediterranean region. Biochemical Systematics and Ecology 38, 493–501. https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.05.002

Heidari, R., Farajzadeh Sheikh, A., Hashemzadeh, M., Farshadzadeh, Z., Salmanzadeh, S., Saki, M., 2022. Antibiotic resistance, biofilm production ability and genetic diversity of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from nosocomial infections in southwestern Iran. Molecular biology reports 49, 3811–3822.

Héral, B., Stierlin, É., Fernandez, X., Michel, T., 2021. Phytochemicals from the genus *Lavandula*: A review. Phytochemistry Reviews 20, 751–771.

Hilmi, Y., Abushama, M.F., Abdalgadir, H., Khalid, A., Khalid, H., 2014. A study of antioxidant activity, enzymatic inhibition and in vitro toxicity of selected traditional sudanese plants with anti-diabetic potential. BMC complementary and alternative medicine 14, 1–5.

Hombach, M., Bloemberg, G.V., Böttger, E.C., 2012. Effects of clinical breakpoint changes in CLSI guidelines 2010/2011 and EUCAST guidelines 2011 on antibiotic susceptibility test reporting of Gram-negative bacilli. Journal of antimicrobial chemotherapy 67, 622–632.

Hori, K., Matsumoto, S., 2010. Bacterial adhesion: From mechanism to control. Biochemical Engineering Journal 48, 424–434.

Hou, T., Sana, S.S., Li, H., Xing, Y., Nanda, A., Netala, V.R., Zhang, Z., 2022. Essential oils and its antibacterial, antifungal and anti-oxidant activity applications: A review. Food Bioscience 47, 101716.

Huang, L., Chang, W., Zhang, D., Huang, Y., Li, Z., Lou, Y., Qian, H., Jiang, C., Li, X., Mol, A., 2022. Acceleration of corrosion of 304 stainless steel by outward extracellular electron transfer of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. Corrosion Science 199, 110159.

Hultqvist, M., Olsson, L.M., Gelderman, K.A., Holmdahl, R., 2009. The protective role of ROS in autoimmune disease. Trends in immunology 30, 201–208.

Hussain, A.I., Anwar, F., Nigam, P.S., Ashraf, M., Gilani, A.H., 2010. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. Journal of the Science of Food and Agriculture 90, 1827–1836.

Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R.L., 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Frontiers in microbiology 3, 12.

Idm'hand, E., Msanda, F., Cherifi, K., 2020. Ethnobotanical study and biodiversity of medicinal plants used in the Tarfaya Province, Morocco. Acta Ecologica Sinica 40, 134–144.

Insawang, S., Pripdeevech, P., Tanapichatsakul, C., Khruengsai, S., Monggoot, S., Nakham, T., Artrod, A., D'Souza, P.E., Panuwet, P., 2019. Essential oil compositions and antibacterial and antioxidant activities of five *Lavandula stoechas* cultivars grown in Thailand. Chemistry & biodiversity 16, e1900371.

Jassbi, A.R., Asadollahi, M., Masroor, M., Schuman, M.C., Mehdizadeh, Z., Soleimani, M., Miri, R., 2012. Chemical classification of the essential oils of the Iranian *Salvia* species in comparison with their botanical taxonomy. Chemistry & biodiversity 9, 1254–1271.

Jeddi, M., Fikri-Benbrahim, K., El Hachlafi, N., Benkhaira, N., Aboussemdai, A., Ouaritini, Z.B., 2023. Chemical Composition of *Thymus vulgaris*, *Origanum compactum* and *Vetiveria zizanoides* Essential oils and their Antibacterial and Antioxidant Activities. Tropical Journal of Natural Product Research 7.

Jiao, N., Herndl, G.J., Hansell, D.A., Benner, R., Kattner, G., Wilhelm, S.W., Kirchman, D.L., Weinbauer, M.G., Luo, T., Chen, F., Azam, F., 2010. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: long-term carbon storage in the global ocean. Nature Reviews Microbiology 8, 593–599. https://doi.org/10.1038/nrmicro2386

Jouad, H., Maghrani, M., Eddouks, M., 2002. Hypoglycemic effect of aqueous extract of *Ammi visnaga* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Herbal Pharmacotherapy 2, 19–29.

Ju, J., Xie, Y., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., Yao, W., 2022. Synergistic interactions of plant essential oils with antimicrobial agents: A new antimicrobial therapy. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 62, 1740–1751.

Jugreet, B.S., Suroowan, S., Rengasamy, R.K., Mahomoodally, M.F., 2020. Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. Trends in Food Science & Technology 101, 89–105.

Kachkoul, R., Benjelloun Touimi, G., Bennani, B., El Habbani, R., El Mouhri, G., Mohim, M., Sqalli Houssaini, T., Chebaibi, M., Koulou, A., Lahrichi, A., 2021. The synergistic effect of three essential oils against bacteria responsible for the development of Lithiasis infection: An optimization by the mixture design. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2021.

Kachur, K., Suntres, Z., 2020. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. Critical reviews in food science and nutrition 60, 3042–3053.

Kamal, F.Z., Stanciu, G.D., Lefter, R., Cotea, V.V., Niculaua, M., Ababei, D.C., Ciobica, A., Ech-Chahad, A., 2022. Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Ammi visnaga* L. Essential Oil. Antioxidants 11, 347. https://doi.org/10.3390/antiox11020347

Kamatou, G.P., Viljoen, A.M., 2008. Linalool–A review of a biologically active compound of commercial importance. Natural product communications 3, 1934578X0800300727.

Kandsi, F., Elbouzidi, A., Lafdil, F.Z., Meskali, N., Azghar, A., Addi, M., Hano, C., Maleb, A., Gseyra, N., 2022. Antibacterial and Antioxidant Activity of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin and Clemants Essential Oils: Experimental and Computational Approaches. Antibiotics 11, 482. https://doi.org/10.3390/antibiotics11040482

Karaca, N., Şener, G., Demirci, B., Demirci, F., 2021. Synergistic antibacterial combination of *Lavandula latifolia* Medik. essential oil with camphor. Zeitschrift für Naturforschung C 76, 169–173.

Kasrati, A., Jamali, C.A., Bekkouche, K., Lahcen, H., Markouk, M., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A., 2013. Essential oil composition and antimicrobial activity of wild and cultivated mint timija (*Mentha suaveolens subsp. timija* (Briq.) Harley), an endemic and threatened medicinal species in Morocco. Natural product research 27, 1119–1122.

Kasrati, A., Jamali, C.A., Bekkouche, K., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A., 2014. Plant growth, mineral nutrition and volatile oil composition of *Mentha suaveolens subsp. timija* (Briq.) Harley cultivated under salt stress conditions. Industrial Crops and Products 59, 80–84.

Kaur, K.K., Allahbadia, G., Singh, M., 2019. Monoterpenes—A class of terpenoid group of natural products as a source of natural antidiabetic agents in the future—A review. CPQ Nutrition 3, 1–21.

Kedare, S.B., Singh, R.P., 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. Journal of food science and technology 48, 412–422.

Keddad, A., Baaliouamer, A., Hazzit, M., 2016. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Umbels of Algerian *Ammi visnaga* (L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants 19, 1243–1250. https://doi.org/10.1080/0972060X.2015.1085813

Keskin, I., Gunal, Y., Ayla, S., Kolbasi, B., Sakul, A., Kilic, U., Gok, O., Koroglu, K., Ozbek, H., 2017. Effects of *Foeniculum vulgare* essential oil compounds, fenchone and limonene, on experimental wound healing. Biotechnic & Histochemistry 92, 274–282.

Khadhri, A., El Mokni, R., Mguis, K., Ouerfelli, I., Araujo, M., 2011. Variability of two essential oils of *Ammi visnaga* (L.) Lam. a traditional Tunisian medicinal plant. J. Med. Plants Res 5, 5079–5082.

Khalfallah, A., Labed, A., Semra, Z., Kaki, B., Kabouche, A., Touzani, R., Kabouche, Z., 2011. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Ammi visnaga* L.(Apiaceae) from Constantine, Algeria. Int. J. Med. Aromat. Plants 1, 302–305.

Khalil, N., Bishr, M., Desouky, S., Salama, O., 2020. *Ammi Visnaga* L., a Potential Medicinal Plant: A Review. Molecules 25, 301. https://doi.org/10.3390/molecules25020301

Khursheed, R., Singh, S.K., Wadhwa, S., Kapoor, B., Gulati, M., Kumar, R., Ramanunny, A.K., Awasthi, A., Dua, K., 2019. Treatment strategies against diabetes: Success so far and challenges ahead. European journal of pharmacology 862, 172625.

Kim, M., Ogawa, M., Fujita, Y., Yoshikawa, Y., Nagai, T., Koyama, T., Nagai, S., Lange, A., Fässler, R., Sasakawa, C., 2009. Bacteria hijack integrin-linked kinase to stabilize focal adhesions and block cell detachment. Nature 459, 578–582.

Kim, Y.-M., Jeong, Y.-K., Wang, M.-H., Lee, W.-Y., Rhee, H.-I., 2005. Inhibitory effect of pine extract on α-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. Nutrition 21, 756–761.

Kimera, Z.I., Mshana, S.E., Rweyemamu, M.M., Mboera, L.E., Matee, M.I., 2020. Antimicrobial use and resistance in food-producing animals and the environment: an African perspective. Antimicrobial Resistance & Infection Control 9, 1–12.

Kıran, T.R., Otlu, O., Karabulut, A.B., 2023. Oxidative stress and antioxidants in health and disease. LaboratoriumsMedizin.

Klančnik, A., Šimunović, K., Sterniša, M., Ramić, D., Smole Možina, S., Bucar, F., 2021. Anti-adhesion activity of phytochemicals to prevent *Campylobacter jejuni* biofilm formation on abiotic surfaces. Phytochemistry Reviews 20, 55–84.

Kljuykov, E.V., Zakharova, E.A., Ostroumova, T.A., Tilney, P.M., 2021. Most important carpological anatomical characters in the taxonomy of Apiaceae. Botanical Journal of the Linnean Society 195, 532–544.

Kokilananthan, S., Bulugahapitiya, V.P., Manawadu, H., Gangabadage, C.S., 2022. Sesquiterpenes and monoterpenes from different varieties of guava leaf essential oils and their antioxidant potential. Heliyon 8.

Koo, B.-M., Kritikos, G., Farelli, J.D., Todor, H., Tong, K., Kimsey, H., Wapinski, I., Galardini, M., Cabal, A., Peters, J.M., 2017. Construction and analysis of two genome-scale deletion libraries for *Bacillus subtilis*. Cell systems 4, 291-305. e7.

Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., Ala, A., Yildirim, A., 2005. Determination of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Artemisia dracunculus* and of the Antifungal and Antibacterial Activities of Turkish *Artemisia absinthium* , *A. dracunculus* , *Artemisia santonicum* , and *Artemisia spicigera* Essential Oils. J. Agric. Food Chem. 53, 9452–9458. https://doi.org/10.1021/jf0516538

Kumar, A.P., Chougala, M., Nandini, C.D., Salimath, P.V., 2010. Effect of butyric acid supplementation on serum and renal antioxidant enzyme activities in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of food biochemistry 34, 15–30.

Laaraj, N., Bouhrim, M., Kharchoufa, L., Tiji, S., Bendaha, H., Addi, M., Drouet, S., Hano, C., Lorenzo, J.M., Bnouham, M., Mimouni, M., 2022. Phytochemical Analysis, α-Glucosidase and α-Amylase Inhibitory Activities and Acute Toxicity Studies of Extracts from Pomegranate (*Punica granatum*) Bark, a Valuable Agro-Industrial By-Product. Foods 11, 1353. https://doi.org/10.3390/foods11091353

Laftouhi, A., Eloutassi, N., Drioua, S., Ech-Chihbi, E., Rais, Z., Abdellaoui, A., Taleb, A., Beniken, M., Taleb, M., 2023. Impact of Water Stress and Temperature on Metabolites and Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* (Phytochemical Screening, Extraction, and Gas Chromatography). Journal of Ecological Engineering 24.

Laib, I., 2012. Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*: application aux moisissures des légumes secs. Nature & Technology/Nature & Technologie.

Lakoh, S., Li, L., Sevalie, S., Guo, X., Adekanmbi, O., Yang, G., Adebayo, O., Yi, L., Coker, J.M., Wang, S., 2020. Antibiotic resistance in patients with clinical features of healthcare-associated infections in an urban tertiary hospital in Sierra Leone: a cross-sectional study. Antimicrobial Resistance & Infection Control 9, 1–10.

Lari, Z.N., Hajimonfarednejad, M., Riasatian, M., Abolhassanzadeh, Z., Iraji, A., Vojoud, M., Heydari, M., Shams, M., 2020. Efficacy of inhaled *Lavandula angustifolia* Mill. Essential oil on sleep quality, quality of life and metabolic control in patients with diabetes mellitus type II and insomnia. Journal of ethnopharmacology 251, 112560.

Lawrence, B.M., 2006. Mint: the genus Mentha. CRC press.

Leherbauer, I., Stappen, I., 2020. Selected essential oils and their mechanisms for therapeutic use against public health disorders. An overview. Zeitschrift für Naturforschung C 75, 205–223.

Lekbach, Y., Bennouna, F., El Abed, S., Balouiri, M., El Azzouzi, M., Aouniti, A., Ibnsouda Koraichi, S., 2021. Green corrosion inhibition and adsorption behaviour of *Cistus ladanifer* extract on 304L stainless steel in hydrochloric acid solution. Arabian Journal for Science and Engineering 46, 103–113.

Lekbach, Y., Li, Z., Xu, D., El Abed, S., Dong, Y., Liu, D., Gu, T., Koraichi, S.I., Yang, K.E., Wang, F., 2019. *Salvia officinalis* extract mitigates the microbiologically influenced corrosion of 304L stainless steel by *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. Bioelectrochemistry 128, 193–203.

Lekbach, Y., Xu, D., El Abed, S., Dong, Y., Liu, D., Khan, M.S., Koraichi, S.I., Yang, K., 2018. Mitigation of microbiologically influenced corrosion of 304L stainless steel in the presence of *Pseudomonas aeruginosa* by *Cistus ladanifer* leaves extract. International Biodeterioration & Biodegradation 133, 159–169.

Levy, S.B., Marshall, B., 2004. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. Nature medicine 10, S122–S129.

Li, Y.-N., Zhang, S.-B., Lv, Y.-Y., Zhai, H.-C., Cai, J.-P., Hu, Y.-S., 2022. Mechanisms underlying the inhibitory effects of linalool on *Aspergillus flavus* spore germination. Applied Microbiology and Biotechnology 106, 6625–6640.

Lis-Balchin, M., 2006. Aromatherapy science: a guide for healthcare professionals. Pharmaceutical press.

Liu, L., Sun, Y., Laura, T., Liang, X., Ye, H., Zeng, X., 2009. Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from Ilex kudingcha CJ Tseng. Food chemistry 112, 35–41.

Liu, R., Mabury, S.A., 2020. Synthetic phenolic antioxidants: A review of environmental occurrence, fate, human exposure, and toxicity. Environmental science & technology 54, 11706–11719.

Liu, Z., Ren, Z., Zhang, J., Chuang, C.-C., Kandaswamy, E., Zhou, T., Zuo, L., 2018. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. Frontiers in physiology 9, 477.

Lobanovska, M., Pilla, G., 2017. Focus: drug development: Penicillin's discovery and antibiotic resistance: lessons for the future? The Yale journal of biology and medicine 90, 135.

Lombard, J., Moreira, D., 2011. Origins and early evolution of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis in the three domains of life. Molecular biology and evolution 28, 87–99.

Lopez-Romero, J.C., González-Ríos, H., Borges, A., Simões, M., 2015. Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2015.

Lourenço, S.C., Moldão-Martins, M., Alves, V.D., 2019. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. Molecules 24, 4132.

Lu, H., Wu, X., Liang, Y., Zhang, J., 2006. Variation in Chemical Composition and Antibacterial Activities of Essential Oils from Two Species of *Houttuynia* T HUNB. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 54, 936–940.

Madhuri, K., Naik, P.R., 2017. Ameliorative effect of borneol, a natural bicyclic monoterpene against hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. Biomedicine & Pharmacotherapy 96, 336–347.

Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical microbiology and infection 18, 268–281.

Mahboubi, M., 2021. *Mentha spicata* L. essential oil, phytochemistry and its effectiveness in flatulence. Journal of Traditional and Complementary Medicine 11, 75–81.

Mahdavifard, S., Nakhjavani, M., 2020. Effect of linalool on the activity of glyoxalase-I and diverse glycation products in rats with type 2 diabetes. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 30, 24–33.

Mahmud, J., Muranyi, P., Salmieri, S., Lacroix, M., 2023. Optimization of a natural antimicrobial formulation against potential meat spoilage bacteria and food-borne pathogens: Mixture design methodology and predictive modeling. Microbial Pathogenesis 176, 106000.

Mahnashi, M.H., Alqahtani, Y.S., Alyami, B.A., Alqarni, A.O., Ayaz, M., Ghufran, M., Ullah, F., Sadiq, A., Ullah, I., Haq, I.U., 2022. Phytochemical analysis, α-glucosidase and amylase inhibitory, and molecular docking studies on *Persicaria hydropiper* L. leaves essential oils. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2022.

Mahnert, A., Moissl-Eichinger, C., Zojer, M., Bogumil, D., Mizrahi, I., Rattei, T., Martinez, J.L., Berg, G., 2019. Man-made microbial resistances in built environments. Nature communications 10, 968.

Malabadi, R.B., Kolkar, K.P., Meti, N.T., Chalannavar, R.K., 2021. Camphor tree, *Cinnamomum camphora* (L.); Ethnobotany and pharmacological updates. Biomedicine 41, 181–184.

Mandoulakani, B.A., Eyvazpour, E., Ghadimzadeh, M., 2017. The effect of drought stress on the expression of key genes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids and essential oil components in basil (*Ocimum basilicum* L.). Phytochemistry 139, 1–7.

Manssouri, M., Znini, M., Majidi, L., 2020. Studies on the antioxidant activity of essential oil and various extracts of *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. Fruits from Morocco. Journal of Taibah University for Science 14, 124–130.

Marchese, A., Arciola, C.R., Barbieri, R., Silva, A.S., Nabavi, S.F., Tsetegho Sokeng, A.J., Izadi, M., Jafari, N.J., Suntar, I., Daglia, M., 2017. Update on monoterpenes as antimicrobial agents: A particular focus on p-cymene. Materials 10, 947.

Martens, E., Demain, A.L., 2017. The antibiotic resistance crisis, with a focus on the United States. The Journal of antibiotics 70, 520–526.

Martiz, R.M., Patil, S.M., Thirumalapura Hombegowda, D., Shbeer, A.M., Alqadi, T., Al-Ghorbani, M., Ramu, R., Prasad, A., 2022. Phyto-computational intervention of diabetes mellitus at multiple stages using isoeugenol from Ocimum tenuiflorum: A combination of pharmacokinetics and molecular modelling approaches. Molecules 27, 6222.

Mata, A.T., Proença, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araújo, M.E.M., 2007. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. Food Chemistry 103, 778–786. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.017

Matos, F., Miguel, M.G., Duarte, J., Venâncio, F., Moiteiro, C., Correia, A.I.D., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., 2009. Antioxidant Capacity of the Essential Oils From *Lavandula luisieri, L. stoechas subsp. lusitanica, L. stoechas* subsp. *lusitanica* x *L. luisieri* and *L. viridis* Grown in Algarve (Portugal). Journal of Essential Oil Research 21, 327–336. https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700184

Merrouni, I.A., Kharchoufa, L., Bencheikh, N., Elachouri, M., 2021. Ethnobotanical profile of medicinal plants used by people of North-eastern Morocco: Cross-cultural and Historical approach (Part I). Ethnobotany Research and Applications 21, 1–45.

Miara, M.D., Bendif, H., Rebbas, K., Rabah, B., Hammou, M.A., Maggi, F., 2019. Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). Journal of Herbal Medicine 16, 100262.

Mighri, H., Akrout, A., Casanova, J., Tomi, F., Neffati, M., 2009. Influence of drying time and process on *Artemisia herba-alba* Asso essential oil yield and composition. Journal of Essential Oil Bearing Plants 12, 358–364.

Mimica-Dukić, N., Bugarin, D., Grbović, S., Mitić-Ćulafić, D., Vuković-Gačić, B., Orčić, D., Jovin, E., Couladis, M., 2010. Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. Molecules 15, 2759–2770.

Mogosan, C., Vostinaru, O., Oprean, R., Heghes, C., Filip, L., Balica, G., Moldovan, R.I., 2017. A comparative analysis of the chemical composition, anti-inflammatory, and antinociceptive effects of the essential oils from three species of *Mentha* cultivated in Romania. Molecules 22, 263.

Mohamed, A., Karima, S., Nadia, O., 2022. The Use of Medicinal Plants Against Cancer: An Ethnobotanical Study in the Beni Mellal-Khenifra Region in Morocco. European Journal of Integrative Medicine 102137.

Mokbel, A.A., Alharbi, A.A., 2015. Antifungal effects of basil and camphor essential oils against'*Aspergillus flavus*' and'*A. parasiticus*'. Australian Journal of Crop Science 9, 532–537.

Mollova, S., Fidan, H., Antonova, D., Bozhilov, D., Stanev, S., Kostova, I., Stoyanova, A., 2020. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activity of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subspecies essential oils. Turkish journal of agriculture and forestry 44, 371–378.

More, T.A., Kulkarni, B.R., Nalawade, M.L., Arvindekar, A.U., 2014. Antidiabetic activity of linalool and limonene in streptozotocin-induced diabetic rat: A combinatorial therapy approach. Int. J. Pharm. Pharm. Sci 6, 159–163.

Mouhoub, A., Raouan, S.E., Guendouz, A., El Alaoui-Talibi, Z., Koraichi, S.I., El Abed, S., Delattre, C., El Modafar, C., 2022. Antiadhesion effect of the Chitosan-based Film incorporated with essential oils against foodborne bacteria. Industrial Crops and Products 189, 115742.

Moussaoui, N., 2013. Antibacterial and Antiviral Activities of Essential Oils of Northern Moroccan Plants. BBJ 3, 318–331. https://doi.org/10.9734/BBJ/2013/3596

Mukherji, R., Prabhune, A., 2015. A new class of bacterial quorum sensing antagonists: glycomonoterpenols synthesized using linalool and alpha terpineol. World Journal of Microbiology and Biotechnology 31, 841–849.

Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., Wink, M., 2010. Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1, 8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. Phytomedicine 17, 1061–1066.

Munita, J.M., Arias, C.A., 2016. Mechanisms of antibiotic resistance. Virulence mechanisms of bacterial pathogens 481–511.

Murali, R., Saravanan, R., 2012. Antidiabetic effect of d-limonene, a monoterpene in streptozotocin-induced diabetic rats. Biomedicine & Preventive Nutrition 2, 269–275. https://doi.org/10.1016/j.bionut.2012.08.008

Mustafa, S.B., Akram, M., Muhammad Asif, H., Qayyum, I., Hashmi, A.M., Munir, N., Khan, F.S., Riaz, M., Ahmad, S., 2019. Antihyperglycemic activity of hydroalcoholic extracts of selective medicinal plants *Curcuma longa*, *Lavandula stoechas*, *Aegle marmelos*, and *Glycyrrhiza glabra* and their polyherbal preparation in alloxan-induced diabetic mice. Dose-Response 17, 1559325819852503.

Myszka, K., Czaczyk, K., 2011. Bacterial biofilms on food contact surfaces-a review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences 61.

Nafis, A., Kasrati, A., Jamali, C.A., Mezrioui, N., Setzer, W., Abbad, A., Hassani, L., 2019. Antioxidant activity and evidence for synergism of *Cannabis sativa* (L.) essential oil with antimicrobial standards. Industrial Crops and Products 137, 396–400.

Najibullah, S.N.M., Ahamad, J., Aldahish, A.A., Sultana, Shaheen, Sultana, Shehnaz, 2021. Chemical characterization and α-glucosidase inhibitory activity of essential oil of *Lavandula angustifolia* flowers. Journal of Essential Oil Bearing Plants 24, 431–438.

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., De Feo, V., 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. Pharmaceuticals 6, 1451–1474.

Ni, Z.-J., Wang, X., Shen, Y., Thakur, K., Han, J., Zhang, J.-G., Hu, F., Wei, Z.-J., 2021. Recent updates on the chemistry, bioactivities, mode of action, and industrial applications of plant essential oils. Trends in Food Science & Technology 110, 78–89.

Nieto, G., Ros, G., Castillo, J., 2018. Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A review. Medicines 5, 98.

Nikaido, H., 2009. Multidrug resistance in bacteria. Annual review of biochemistry 78, 119–146.

Nithiyanantham, S., Kalaiselvi, P., Mahomoodally, M.F., Zengin, G., Abirami, A., Srinivasan, G., 2019. Nutritional and functional roles of millets—A review. Journal of food biochemistry 43, e12859.

Okechukwu, P., Sharma, M., Tan, W.H., Chan, H.K., Chirara, K., Gaurav, A., Al-Nema, M., 2020. In-vitro anti-diabetic activity and in-silico studies of binding energies of palmatine with alpha-amylase, alpha-glucosidase and DPP-IV enzymes. Pharmacia 67, 363–371.

Ola, O.S., Sofolahan, T.A., 2021. A monoterpene antioxidant, linalool, mitigates benzene-induced oxidative toxicities on hematology and liver of male rats. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences 8, 39–53.

O'Neill, E.C., Yeoh, J., Fabinyi, D.C., Cassidy, D., Vajpayee, R.B., Allen, P., Connell, P.P., 2014. Risk factors, microbial profiles and prognosis of microbial keratitis-associated endophthalmitis in high-risk eyes. Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology 252, 1457–1462.

Orch, H., Zidane, L., Douira, A., 2020. Ethnobotanical study of plants used in the treatment of respiratory diseases in a population bordering the forest of Izarène. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research 8, 392–409.

Organisation mondiale de la Santé., 2013. Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023.

Osaili, T.M., Dhanasekaran, D.K., Zeb, F., Faris, M.E., Naja, F., Radwan, H., Ismail, L.C., Hasan, H., Hashim, M., Obaid, R.S., 2023. A Status Review on Health-Promoting Properties and Global Regulation of Essential Oils. Molecules 28, 1809.

Otokunefor, K., Agbagwa, O.E., Oshifade, E., Ibezim, C.N.E., Azi, E., 2023. Antimicrobial Resistance: A Collective Responsibility, in: Modernity in Health and Disease Diagnosis: The Account from STEM Women. Springer, pp. 89–98.

Otto, K., Norbeck, J., Larsson, T., Karlsson, K.-A., Hermansson, M., 2001. Adhesion of type 1-fimbriated *Escherichia coli* to abiotic surfaces leads to altered composition of outer membrane proteins. Journal of bacteriology 183, 2445–2453.

Ouedrhiri, W., Mechchate, H., Moja, S., Baudino, S., Saleh, A., Al Kamaly, O.M., Grafov, A., Greche, H., 2022. Optimized antibacterial effects in a designed mixture of essential oils of

myrtus communis, *Artemisia herba-alba* and *Thymus serpyllum* for wide range of applications. Foods 11, 132.

Padhi, S., Nayak, A.K., Behera, A., 2020. Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. Biomedicine & Pharmacotherapy 131, 110708.

Palmer, J., Flint, S., Brooks, J., 2007. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 34, 577–588.

Pateiro, M., Barba, F.J., Domínguez, R., Sant'Ana, A.S., Khaneghah, A.M., Gavahian, M., Gómez, B., Lorenzo, J.M., 2018. Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. Food Research International 113, 156–166.

Patlevič, P., Vašková, J., Švorc Jr, P., Vaško, L., Švorc, P., 2016. Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. Integrative medicine research 5, 250–258.

Peiffer-Smadja, N., Rawson, T.M., Ahmad, R., Buchard, A., Georgiou, P., Lescure, F.-X., Birgand, G., Holmes, A.H., 2020. Machine learning for clinical decision support in infectious diseases: a narrative review of current applications. Clinical Microbiology and Infection 26, 584–595.

Peng, C.-H., Ker, Y.-B., Weng, C.-F., Peng, C.-C., Huang, C.-N., Lin, L.-Y., Peng, R.Y., 2009. Insulin secretagogue bioactivity of finger citron fruit (*Citrus medica* L. *var. Sarcodactylis* Hort, Rutaceae). Journal of agricultural and food chemistry 57, 8812–8819.

Peterson, E., Kaur, P., 2018. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. Frontiers in microbiology 9, 2928.

Petretto, G.L., Fancello, F., Zara, S., Foddai, M., Mangia, N.P., Sanna, M.L., Omer, E.A., Menghini, L., Chessa, M., Pintore, G., 2014. Antimicrobial activity against beneficial microorganisms and chemical composition of essential oil of *Mentha suaveolens* ssp. insularis grown in Sardinia. Journal of Food Science 79, M369–M377.

Pisoschi, A.M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., Serban, A.I., 2021. Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. European Journal of Medicinal Chemistry 209, 112891.

Prieto, M.A., Rodríguez-Amado, I., Vázquez, J.A., Murado, M.A., 2012. β-Carotene assay revisited. Application to characterize and quantify antioxidant and prooxidant activities in a microplate. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60, 8983–8993.

Pristov, K.E., Ghannoum, M.A., 2019. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. Clinical Microbiology and Infection 25, 792–798.

Pulido, R., Bravo, L., Saura-Calixto, F., 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. Journal of agricultural and food chemistry 48, 3396–3402.

Rada, B., Leto, T.L., 2008. Oxidative Innate Immune Defenses by Nox/Duox Family NADPH Oxidases, in: Egesten, A., Schmidt, A., Herwald, H. (Eds.), Contributions to Microbiology. KARGER, Basel, pp. 164–187. https://doi.org/10.1159/000136357

Rahal, M., 2021. Herbe aux cure-dents *Ammi visnaga*. Phytothérapie 19, 267.

Rahman, M.M., Islam, M.R., Shohag, S., Hossain, M.E., Rahaman, M.S., Islam, F., Ahmed, M., Mitra, S., Khandaker, M.U., Idris, A.M., 2022. The multifunctional role of herbal products in the management of diabetes and obesity: a comprehensive review. Molecules 27, 1713.

Rasooli, I., Taghizadeh, M., Astaneh, S.D.A., Rezaei, M.B., Jaimand, K., 2007. Phytobiological properties of *Ammi visnaga* L. and *Lavandula angustifolia* Mill. essential oils. Int. J. Essent. Oil Ther 1, 72–78.

Razzouk, S., Mazri, M.A., Jeldi, L., Mnasri, B., Ouahmane, L., Alfeddy, M.N., 2022. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from three Mediterranean plants against eighteen pathogenic bacteria and fungi. Pharmaceutics 14, 1608.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine 26, 1231–1237.

Redouan, F.Z., Yebouk, C., Crisafulli, A., Picone, R.M., Merzouki, A., 2022. Ethnopharmacological preparations used for digestive system disorders in Talassemtane National Park (North of Morocco). Ethnobotany Research and Applications 24, 1–25.

Rennie, R.P., Turnbull, L., Brosnikoff, C., Cloke, J., 2012. First comprehensive evaluation of the MIC evaluator device compared to Etest and CLSI reference dilution methods for antimicrobial susceptibility testing of clinical strains of anaerobes and other fastidious bacterial species. Journal of clinical microbiology 50, 1153–1157.

Reyes-Jurado, F., Navarro-Cruz, A.R., Ochoa-Velasco, C.E., Palou, E., López-Malo, A., Ávila-Sosa, R., 2020. Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials: A review. Critical reviews in food science and nutrition 60, 1641–1650.

Riahi, L., Elferchichi, M., Ghazghazi, H., Jebali, J., Ziadi, S., Aouadhi, C., Chograni, H., Zaouali, Y., Zoghlami, N., Mliki, A., 2013. Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. Industrial Crops and Products 49, 883–889. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.032

Ribeiro, M., Monteiro, F.J., Ferraz, M.P., 2012. Infection of orthopedic implants with emphasis on bacterial adhesion process and techniques used in studying bacterial-material interactions. Biomatter 2, 176–194.

Rosenblatt-Farrell, N., 2009. The landscape of antibiotic resistance. National Institute of Environmental Health Sciences.

Roy, S., Chowdhury, G., Mukhopadhyay, A.K., Dutta, S., Basu, S., 2022. Convergence of biofilm formation and antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infection. Frontiers in medicine 9, 793615.

Ruščić, M., Nikolić, T., 2011. *Ammi visnaga* (L.) Lam.(Apiaceae), a new taxon in Croatian flora. Acta Botanica Croatica 70, 301–306.

Sadgrove, N.J., Padilla-González, G.F., Phumthum, M., 2022. Fundamental chemistry of essential oils and volatile organic compounds, methods of analysis and authentication. Plants 11, 789.

Sadiki, M., Barkai, H., Ibnsouda Koraichi, S., Elabed, S., 2014. The effect of the *Thymus vulgaris* extracts on the physicochemical characteristics of cedar wood using angle contact measurement. Journal of Adhesion Science and Technology 28, 1925–1934.

Sadiki, M., Elabed, S., Barkai, H., Balouiri, M., Nasri, A., Koraichi, S.I., 2017. The modification of cedar wood surface properties for the prevention of fungal adhesion. International Journal of Adhesion and Adhesives 75, 40–46.

Sahebkar, A., Iranshahi, M., 2010. Biological activities of essential oils from the genus *Ferula* (Apiaceae). Asian Biomedicine 4, 835–847.

Şahinler, S.S., Yilmaz, B.S., Sarikürkcü, C., Bektaş, T., 2022. The importance of *Lavandula stoechas* L. in pharmacognosy and phytotherapy. International Journal of Secondary Metabolite 9, 360–376.

Salehi, B., Stojanović-Radić, Z., Matejić, J., Sharopov, F., Antolak, H., Kręgiel, D., Sen, S., Sharifi-Rad, M., Acharya, K., Sharifi-Rad, R., 2018a. Plants of genus *Mentha*: From farm to food factory. Plants 7, 70.

Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A., 2010. Floristic and ethnobotanical study of medicinal plants of Kénitra (Maroc). Lazaroa 31, 133–146.

Samrot, A. V, Abubakar Mohamed, A., Faradjeva, E., Si Jie, L., Hooi Sze, C., Arif, A., Chuan Sean, T., Norbert Michael, E., Yeok Mun, C., Xiao Qi, N., 2021. Mechanisms and impact of biofilms and targeting of biofilms using bioactive compounds-A review. Medicina 57, 839.

Sandasi, M., Leonard, C.M., Viljoen, A.M., 2008. The effect of five common essential oil components on *Listeria monocytogenes* biofilms. Food control 19, 1070–1075.

Santajit, S., Indrawattana, N., 2016. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. BioMed research international 2016.

Santos-Sánchez, N.F., Salas-Coronado, R., Hernández-Carlos, B., Villanueva-Cañongo, C., 2019. Shikimic acid pathway in biosynthesis of phenolic compounds. Plant physiological aspects of phenolic compounds 1, 1–15.

Sarac, N., Ugur, A., 2009. The in vitro antimicrobial activities of the essential oils of some Lamiaceae species from Turkey. Journal of Medicinal Food 12, 902–907.

Šarić-Kundalić, B., Fialová, S., Dobeš, C., Ölzant, S., Tekeľová, D., Grančai, D., Reznicek, G., Saukel, J., 2009. Multivariate numerical taxonomy of *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. Scientia Pharmaceutica 77, 851–876.

Satrani, B., Aberchane, M., Farah, A., Chaouch, A., Talbi, M., 2006. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti. Acta botanica gallica 153, 97–104.

Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A., Merah, O., 2017. The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. Industrial crops and products 109, 661–671.

Sebai, H., Selmi, S., Rtibi, K., Souli, A., Gharbi, N., Sakly, M., 2013. Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. Lipids in health and disease 12, 1–9.

Seibert, J.B., Rodrigues, I.V., Carneiro, S.P., Amparo, T.R., Lanza, J.S., Frézard, F.J.G., de Souza, G.H.B., Santos, O.D.H. dos, 2019. Seasonality study of essential oil from leaves of *Cymbopogon densiflorus* and nanoemulsion development with antioxidant activity. Flavour and fragrance journal 34, 5–14.

Seino, S., Sugawara, K., Yokoi, N., Takahashi, H., 2017. β-Cell signalling and insulin secretagogues: A path for improved diabetes therapy. Diabetes, Obesity and Metabolism 19, 22–29.

Sellami, H.K., Flamini, G., Cioni, P.L., Smiti, S., 2011. Composition of the essential oils in various organs at different developmental stages of *Ammi visnaga* (L.) Lam. from Tunisia. Chemistry & Biodiversity 8, 1990–2004.

Semaan, D.G., Igoli, J.O., Young, L., Marrero, E., Gray, A.I., Rowan, E.G., 2017. In vitro anti-diabetic activity of flavonoids and pheophytins from *Allophylus cominia* Sw. on PTP1B, DPPIV, alpha-glucosidase and alpha-amylase enzymes. Journal of Ethnopharmacology 203, 39–46.

Semeniuc, C.A., Socaciu, M.-I., Socaci, S.A., Mureșan, V., Fogarasi, M., Rotar, A.M., 2018. Chemometric comparison and classification of some essential oils extracted from plants belonging to Apiaceae and Lamiaceae families based on their chemical composition and biological activities. Molecules 23, 2261.

Semyari, H., Owlia, P., Farhadi, S., Tabrizi, S.M., 2011. Evaluation of antimicrobial effect of *Ammi visnaga* against oral *streptococci*. Journal of Microbiology and Antimicrobials 3, 126–129.

Shahidi, F., Zhong, Y., 2015. Measurement of antioxidant activity. Journal of functional foods 18, 757–781.

Shahmoradi Ghahe, S., Kosicki, K., Wojewódzka, M., Majchrzak, B.A., Fogtman, A., Iwanicka-Nowicka, R., Ciuba, A., Koblowska, M., Kruszewski, M., Tudek, B., Speina, E., 2021. Increased DNA repair capacity augments resistance of glioblastoma cells to photodynamic therapy. DNA Repair 104, 103136. https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2021.103136

Shaikh, S., Yaacob, H.B., Rahim, Z.H.A., 2014. Prospective role in treatment of major illnesses and potential benefits as a safe insecticide and natural food preservative of mint (*Mentha spp*.): a Review. Asian J Biomed Pharm Sci 4, 1–12.

Shang, C., Lin, H., Fang, X., Wang, Y., Jiang, Z., Qu, Y., Xiang, M., Shen, Z., Xin, L., Lu, Y., 2021. Beneficial effects of cinnamon and its extracts in the management of cardiovascular diseases and diabetes. Food & function 12, 12194–12220.

Sharopov, F.S., Salimov, A., Numonov, S., Bakri, M., Sangov, Z., Habasi, M., Aisa, H.A., Setzer, W.N., 2020. Phytochemical study on the essential oils of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) growing in Tajikistan and its comparison with the essential oil of the species in the rest of the world. Natural Product Communications 15, 1934578X20977394.

Shi, X., Zhu, X., 2009. Biofilm formation and food safety in food industries. Trends in Food Science & Technology 20, 407–413.

Siddiqui, M.A., Siddiqui, H.H., Khalid, M., 2023. Cardioprotective potential of *Lavandula stoechas* against isoprenaline-induced myocardial necrosis in rats. Intelligent Pharmacy.

Singer, A.C., Shaw, H., Rhodes, V., Hart, A., 2016. Review of antimicrobial resistance in the environment and its relevance to environmental regulators. Frontiers in microbiology 7, 1728.

Sivasothy, Y., Sundralingam, U., Goh, A.P.-T., Kar Men, T., Jian Min, K.V., 2023. The potential of culinary herbs and spices from the genera *Curcuma* and *Zingiber* in the management of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. Journal of Essential Oil Research 1–10.

Skalli, S., Hassikou, R., Arahou, M., 2019. An ethnobotanical survey of medicinal plants used for diabetes treatment in Rabat, Morocco. Heliyon 5, e01421.

Soro, K.N., Sabri, L., Amalich, S., Khabbal, Y., Zair, T., 2015. Chemical composition of Moroccan *Ammi visnaga* L.(Lam.) and antibacterial activity of its essential oil against extended-spectrum beta-lactamase-producing and not producing bacteria. Phytotherapie 13, 168–175.

Spagnoletti, A., Guerrini, A., Tacchini, M., Vinciguerra, V., Leone, C., Maresca, I., Simonetti, G., Sacchetti, G., Angiolella, L., 2016. Chemical composition and bio-efficacy of essential oils from italian aromatic plants: *Mentha suaveolens*, *Coridothymus capitatus*, *Origanum hirtum* and *Rosmarinus officinalis*. Natural Product Communications 11, 1934578X1601101023.

Spencer, A., Hamill, J.D., Rhodes, M.J., 1993. In vitro biosynthesis of monoterpenes by Agrobacterium transformed shoot cultures of two *Mentha* species. Phytochemistry 32, 911–919.

Stevens, N., Allred, K., 2022. Antidiabetic potential of volatile cinnamon oil: A review and exploration of mechanisms using in silico molecular docking simulations. Molecules 27, 853.

Sutour, S., Bradesi, P., de Rocca-Serra, D., Casanova, J., Tomi, F., 2008. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Mentha suaveolens ssp. insularis* (Req.) Greuter. Flavour and Fragrance Journal 23, 107–114.

Tafrihi, M., Imran, M., Tufail, T., Gondal, T.A., Caruso, G., Sharma, S., Sharma, R., Atanassova, M., Atanassov, L., Valere Tsouh Fokou, P., 2021. The wonderful activities of the genus *Mentha*: Not only antioxidant properties. Molecules 26, 1118.

Talaat, I.M., Khattab, H.I., Ahmed, A.M., 2014. Changes in growth, hormones levels and essential oil content of *Ammi visnaga* L. plants treated with some bioregulators. Saudi Journal of Biological Sciences 21, 355–365. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.10.008

Tampieri, M.P., Galuppi, R., Macchioni, F., Carelle, M.S., Falcioni, L., Cioni, P.L., Morelli, I., 2005. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. Mycopathologia 159, 339–345.

Tanwar, J., Das, S., Fatima, Z., Hameed, S., 2014. Multidrug resistance: an emerging crisis. Interdisciplinary perspectives on infectious diseases 2014.

Tavakolpour, Y., Moosavi-Nasab, M., Niakousari, M., Haghighi-Manesh, S., Hashemi, S.M.B., Mousavi Khaneghah, A., 2017. Comparison of four extraction methods for essential oil from *Thymus daenensis Subsp. Lancifolius* and chemical analysis of extracted essential oil. Journal of Food Processing and Preservation 41, e13046.

Tenover, F.C., 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. The American journal of medicine 119, S3–S10.

Thalapaneni, N.R., Chidambaram, K.A., Ellappan, T., Sabapathi, M.L., Mandal, S.C., 2008. Inhibition of carbohydrate digestive enzymes by *Talinum portulacifolium* (Forssk) leaf extract. Journal of Complementary and Integrative Medicine 5.

Thomaidou, S., Zaldumbide, A., Roep, B.O., 2018. Islet stress, degradation and autoimmunity. Diabetes, Obesity and Metabolism 20, 88–94.

Tiji, S., Bouhrim, M., Addi, M., Drouet, S., Lorenzo, J.M., Hano, C., Bnouham, M., Mimouni, M., 2021. Linking the phytochemicals and the α-glucosidase and α-amylase enzyme inhibitory effects of *Nigella sativa* seed extracts. Foods 10, 1818.

Tit, D.M., Bungau, S.G., 2023. Antioxidant Activity of Essential Oils, Antioxidants. MDPI.

Tohidi, B., Rahimmalek, M., Arzani, A., 2017. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. Food chemistry 220, 153–161.

Tohidi, B., Rahimmalek, M., Trindade, H., 2019. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of *Thymus* species in Iran. Industrial Crops and Products 134, 89–99.

Toyofuku, M., Inaba, T., Kiyokawa, T., Obana, N., Yawata, Y., Nomura, N., 2016. Environmental factors that shape biofilm formation. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 80, 7–12. https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1058701

Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M.G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G., Bisignano, G., 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrobial agents and chemotherapy 49, 2474–2478.

Tserennadmid, R., Takó, M., Galgóczy, L., Papp, T., Pesti, M., Vágvölgyi, C., Almássy, K., Krisch, J., 2011. Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. International journal of food microbiology 144, 480–486.

Tunnisa, F., Faridah, D.N., Afriyanti, A., Rosalina, D., Syabana, M.A., Darmawan, N., Yuliana, N.D., 2022. Antioxidant and antidiabetic compounds identification in several Indonesian underutilized Zingiberaceae spices using SPME-GC/MS-based volatilomics and in silico methods. Food Chemistry: X 14, 100285.

Uruşak, E.A., Kizilarslan, Ç., 2013. Fruit anatomy of some Ferulago (Apiaceae) species in Turkey. Turkish Journal of Botany 37, 434–445.

van Merode, A.E., van der Mei, H.C., Busscher, H.J., Krom, B.P., 2006. Influence of culture heterogeneity in cell surface charge on adhesion and biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. Journal of bacteriology 188, 2421–2426.

Van Oss, C J, 1995. Hydrophobicity of biosurfaces—origin, quantitative determination and interaction energies. Colloids and surfaces B: Biointerfaces 5, 91–110.

Veepanattu, P., Singh, S., Mendelson, M., Nampoothiri, V., Edathadatil, F., Surendran, S., Bonaconsa, C., Mbamalu, O., Ahuja, S., Birgand, G., 2020. Building resilient and responsive research collaborations to tackle antimicrobial resistance—lessons learnt from India, South Africa, and UK. International Journal of Infectious Diseases 100, 278–282.

Ventola, C.L., 2015. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. Pharmacy and therapeutics 40, 277.

Villaño, D., Fernández-Pachón, M.S., Moyá, M.L., Troncoso, A.M., García-Parrilla, M.C., 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta 71, 230–235.

Vogler, E.A., 1998. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. Advances in colloid and interface science 74, 69–117.

Vogt, T., 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. Molecular plant 3, 2–20.

Vuuren, S. van, Viljoen, A.M., 2007. Antimicrobial activity of limonene enantiomers and 1, 8-cineole alone and in combination. Flavour and fragrance journal 22, 540–544.

Wang, W., Xiong, P., Zhang, H., Zhu, Q., Liao, C., Jiang, G., 2021. Analysis, occurrence, toxicity and environmental health risks of synthetic phenolic antioxidants: A review. Environmental Research 201, 111531.

Wang, Z.-W., Wang, Y.-L., Zhang, J.-P., Wei, Q.-H., Wang, X.-J., 2021. Monoterpene indole alkaloids from the roots of Bousigonia mekongensis and their anti-diabetic nephropathy activity. Fitoterapia 153, 104964.

WHO, 2016. Rapport mondial sur le diabète. Switzerland Geneva. Consulté le 22/07/2023.

Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H., 2004. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes care 27, 1047–1053.

Xiao, Z., Wang, Q., Zhu, F., An, Y., 2019. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and mortality risk factors of candidemia among critically ill patients: a retrospective study from 2011 to 2017 in a teaching hospital in China. Antimicrobial Resistance & Infection Control 8, 1–7.

Xu, X., Liu, A., Hu, S., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M.-R., Wang, X., Martínez, M., Anadón, A., Martínez, M.-A., 2021. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. Food Chemistry 353, 129488.

Yang, S.-A., Jeon, S.-K., Lee, E.-J., Shim, C.-H., Lee, I.-S., 2010. Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. Natural Product Research 24, 140–151.

Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M., Gordon, M.H., Raneva, V.G., 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry 64, 59–66.

Yorbik, O., Sayal, A., Akay, C., Akbiyik, D.I., Sohmen, T., 2002. Investigation of antioxidant enzymes in children with autistic disorder. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 67, 341–343. https://doi.org/10.1054/plef.2002.0439

Yu, L., Shi, H., 2021. Recent advances in anti-adhesion mechanism of natural antimicrobial agents on fresh produce. Current Opinion in Food Science 42, 8–14.

Zafar, F., Shahid, M., Fatima, H., Riaz, M., Anjum, F., Mushtaq, Z., Zia, S., Jahangir, M.M., Aslam, M.A., 2022. Antibiofilm and Quorum Sensing Inhibition (QSI) Potential of *Lagerstroemia speciosa* Leaves Extract. Dose-Response 20, 15593258221132080.

Zaharia, O.P., Strassburger, K., Strom, A., Bönhof, G.J., Karusheva, Y., Antoniou, S., Bódis, K., Markgraf, D.F., Burkart, V., Müssig, K., 2019. Risk of diabetes-associated diseases in subgroups of patients with recent-onset diabetes: a 5-year follow-up study. The lancet Diabetes & endocrinology 7, 684–694.

Zahid, A., Rafique, E., Khan, A.H., Firdous, M., Bashir, U., 2021. *Lavandula stoechas* linn: Scrutiny of phytoconstituents, ethno medicinal and pharmacological ramification action.

Zaman, A., Zaman, P., Maitra, S., 2017. Water resource development and management for agricultural sustainability. J. Appl. Adv. Res 2, 73–77.

Zambardi, G., Carricajo, A., Zeni, F., Paul, G., Aubert, G., 1997. Effet bactériostatique et bactéricide de diverses associations β-lactamines-aminosides vis-à-vis d'une souche d'*Enterobacter aerogenes* hyperproductrice de céphalosporinase. Médecine et maladies infectieuses 27, 646–649.

Zekri, N., Handaq, N., El Caidi, A., Zair, T., Alaoui El Belghiti, M., 2016. Insecticidal effect of Mentha pulegium L. and *Mentha suaveolens* Ehrh. hydrosols against a pest of citrus, Toxoptera aurantii (Aphididae). Research on Chemical Intermediates 42, 1639–1649.

Zekri, N., Sabri, H., Khannouchi, S., Belghiti, M.A.E., Zair, T., 2013. Phytochemical study and fumigant toxicity of *Mentha suaveolens* Ehrh essential oil from Morocco against adults of S. oryzae (L.). Australian Journal of Basic and Applied Sciences 7, 599–606.

Zengin, G., Sarikürkçü, C., Aktümsek, A., Ceylan, R., 2016. Antioxidant potential and inhibition of key enzymes linked to Alzheimer's diseases and diabetes mellitus by monoterpene-rich essential oil from Sideritis galatica Bornm. Endemic to Turkey. Records of Natural Products 10, 195.

Zengin, H., Baysal, A.H., 2014. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. Molecules 19, 17773–17798.

Zerkani, H., Tagnaoute, I., Zerkani, S., Radi, F., Amine, S., Cherrat, A., Drioiche, A., Zine, N.E., Benhlima, N., Zair, T., 2021. Study of the chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Mentha suaveolens* Ehrh from Morocco. Journal of Essential Oil Bearing Plants 24, 243–253.

Zhao, L., Chang, W., Xiao, Y., Liu, H., Liu, P., 2013. Methylerythritol phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis. Annual review of biochemistry 82, 497–530.

Zheng, C.-D., Li, G., Li, H.-Q., Xu, X.-J., Gao, J.-M., Zhang, A.-L., 2010. DPPH-scavenging activities and structure-activity relationships of phenolic compounds. Natural product communications 5, 1934578X1000501112.

Zheng, Y., Ley, S.H., Hu, F.B., 2018. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. Nature reviews endocrinology 14, 88–98.

Zouine, N., Raouan, S.E., Elharchli, E., El Ghachtouli, N., El Abed, S., Sadiki, M., Koraichi, S.I.S., 2022. Theoretical and experimental investigations of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* adhesion on 3D printed resin. International Journal of Adhesion and Adhesives 118, 103234.

Zrira, S., Elamrani, A., Benjilali, B., 2003. Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Morocco—a seasonal variation. Flavour and fragrance journal 18, 475–480.

Zunino, M.P., Zygadlo, J.A., 2004. Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize. Planta 219, 303–309.

Zuzarte, M., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Benzarti, A., Marongiu, B., Maxia, A., Piras, A., Salgueiro, L., 2013. Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. Industrial Crops and Products 44, 97–103.