



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la
vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Abdelfattah FERHAT

Le : mardi 20 octobre 2020

Thème

Etude des activités antimicrobiennes et antibiofilm des plantes médicinales de la région de Biskra

Jury :

Mme. Hayat TRABSA	MCB	Université de Biskra	Président
M. Fethi BENBELAID	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
M. Hakim HEBAL	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019 - 2020

Remerciements

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à Dieu le tout puissant et miséricordieux de m'avoir donné la force et le courage de mener ce travail à terme.

Je tiens tout d'abord, à exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à mon directeur de recherche, Dr. Benbelaïd Fethi de m'avoir accepté dans son équipe et de m'avoir fait l'honneur de diriger avec beaucoup d'attention et de soin ce travail. Je lui suis très reconnaissant pour la confiance, la bienveillance, l'aide, le soutien, les précieux conseils, la patience et la disponibilité permanente qu'il m'a témoigné dans ce travail ainsi que, pour la grande autonomie qu'il m'a accordé. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse ma plus profonde gratitude.

Je tiens à remercier les membres de jury d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Je tiens également à exprimer mon reconnaissance et mon sincère gratitude à tous les enseignants de la filière de biologie de l'université de Biskra, sans exceptions, pour les efforts qu'ils ont fournis durant ces cinq années de formation.

Je remercie grandement à toute l'équipe de laboratoire pédagogique, en particulier Mr. Oussama, Mr. Walid, Mr. Abdelkader pour leur aide précieuse durant la réalisation de mon travail.

Mes remerciements vont également au Dr. Daoud, Dr. Bilel, pour leurs conseils avisés, leurs disponibilités et leurs soutiens.

Mes vifs remerciements à toute mes amies Hakim, Fathi, Abdelbassit, Marouane, Ahmed à mes collègues de travail Zineb, Hadjer, Aya, Ikram.

Enfin, je remercie tout ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire qui compte tant pour moi.

Dédicace

À ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour. À ceux qui m'ont encouragé dans mes moments les plus difficiles. À ceux qui m'ont fait confiance, qui ont m'ont soutenus sans faille dans tous mes projets ceux qui m'ont appuyé nuit et jour durant mon parcours, À mon cher père qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin. À ma chère maman qui m'a encouragée, et qui m'a entourée D'amour, que Dieu la garde et la protège.

À mes chers frères, Hamza, Khaled, Bilel, Oussama, Seddik, À mes amies, Nacer, Riad, Hakim, Amor, Elarbi, Hatem, Mohammed, mon cher cousin Islam, Et à toute ma famille.

À tout mes collègues de promotion 2020.

Enfin, je dédie ce mémoire à chacun qui a participé à sa réalisation de pré ou de loin,

merci à tous.

Sommaire

Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Première partie : Partie bibliographique

Chapitre.1 les maladies infectieuses

1. Généralités.....	3
2. Causes	3
2.1. Bactériennes	3
2.3. Virales	3
2.2. Fongiques.....	4
3. La résistance des germes envers la chimiothérapie.....	4
3.1. Résistance des bactéries aux antibiotiques	4
3.1.1 Résistance naturelle.....	4
3.1.2 Résistance acquise.....	4
3.2. Résistance aux antifongiques	4
3.2.1 La résistance intrinsèque.....	4
3.2.2 La Résistance acquise.....	5
4. Les infections nosocomiales	5
4.1. Définition	5
4.2. Principaux microorganismes impliqués.....	5
4.2.1 Les bactéries.....	5
4.2.2 Champignons et parasites.....	5
4.2.3 Les virus.....	6
4.3. Impacts des infections nosocomiales	6

4.3.1 Sur la santé publique.....	6
4.3.2 Sur le plan économique.....	6

Chapitre.2 les huiles essentielles

1. Généralités.....	7
2. Chimie des HEs.....	7
2.1. Composition chimique.....	7
2.1.1 Composés terpéniques.....	7
2.1.2 Les composés aromatiques.....	7
2.1.3 Autres composés.....	8
2.2. Métabolisme.....	8
2.3. Sécrétion et stockage.....	8
3. Activité antimicrobienne des HEs.....	8
3.1. Envers les bactéries.....	8
3.2. Envers les champignons :.....	9
3.3. Mode d'action.....	9
4. Activité antibiofilm des HEs.....	10
4.1. Généralités sur les biofilms.....	10
4.2. Inhibition de la formation des biofilms par les HEs.....	10
4.3. Éradication des biofilms par les HE.....	10

Deuxième partie : partie expérimentale

Chapitre.3 Matériel et méthodes

3.1. Les huiles essentielles.....	11
3.1.1. Source du matériel végétal.....	11
3.1.2. Obtention des huiles essentielles.....	11
3.1.3. Conservation.....	12
3.2. Les souches étudiées.....	12
3.2.1. Mise en culture des souches microbiennes.....	13

3.3. Activités antimicrobiennes des Huiles essentielles	14
3.3.1. Préparation des inocula	14
3.3.2. Aromatogramme	15
3.3.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI »	15
3.3.4. Détermination des CMI de la formation de biofilm.....	16
Chapitre.4 Résultats et discussions	
4.1 Rendements en huiles essentielles	17
4.2 Effets des huiles essentielles étudiées sur les souches de références.....	18
4.2.1 Diamètres des zones d'inhibition.....	18
4.2.2 CMI de la croissance.....	20
4.2.3 CMI des biofilm.....	22
Conclusion.....	24
Références bibliographique.....	26
Annexes	
Résumés	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Rendement en huiles essentielles.....	17
Tableau 2. Comparaison des rendements des plantes étudiées avec d'autres travaux.....	17
Tableau 3. Diamètres d'inhibitions des huiles essentielles étudiées.....	18
Tableau 4. Concentration minimal inhibitrice (%) des huiles essentielles étudiées.....	20

Liste des Figures

Figure 1. Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles.....	8
Figure 2. Les plantes étudiées en pleine inflorescence.....	11
Figure 3. L'appareil d'extraction des huiles essentielles « Clevenger ».....	12
Figure 4. Enrichissement des souches de référence.....	13
Figure 5. Aspect des colonies après l'ensemencement.....	14
Figure 6. Coloration de Gram de quelques souches de référence.....	14
Figure 7. Principe de l'aromatogramme.....	15

Liste des abréviations

ATCC : American Type Culture Collection.

ABR: Absorbance.

BHIB : Brain heart infusion broth.

BCP : Bromocresol purple.

COVID-19 : Coronavirus diseases 2019.

CMi : Concentration Minimale Inhibitrice.

CMiB : Concentration Minimale Inhibitrice de biofilm.

CLSI : Clinical laboratory standard institute.

DO : Densité optique.

HEs : Huiles essentielles.

INs : Infections nosocomiales.

IVU : Infection des voies urinaires.

ISO : Infection du site opératoire.

ICS : Infection de circulation sanguine.

IPP : Iso-Pentényl-Pyrophosphate.

MI : maladies infectieuses.

MH : Müller-Hinton.

OMS : organisation mondiale de la santé.

PEP : phosphoénolpyruvate.

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise.

UFC : Unité formatrice des colonies.

Introduction

Introduction

Les infections microbiennes sont des affections graves dont leur fréquence a augmenté de façon considérable au cours des dernières années principalement chez les patients immunodéprimés ainsi que lors des interventions médico-chirurgicales-hospitalières. L'usage extensif et abusif des agents antibactériens dans la médication humaine et le domaine vétérinaire a conduit à l'apparition de souches microbiennes résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches vers la mise en évidence de nouvelles molécules antimicrobiennes (Mebarki, 2010).

La résistance bactérienne vis-à-vis les antibiotiques fait l'objet de nombreuses études à travers le monde dont la situation ne semble pas s'améliorer. Actuellement, plusieurs espèces bactériennes sont développées des mécanismes de résistance envers de nombreux antibiotiques. Par conséquent, les choix thérapeutiques pour traiter les infections bactériennes, y compris celles liées aux soins, sont de plus en plus restreints et parfois inexistantes. Ceci est dû au fait que le développement des résistances bactériennes progresse plus rapidement que le développement de nouveaux antibiotiques. Ainsi, la communauté scientifique prévoit un épuisement des choix thérapeutiques dans les quelques années à venir (Meriem et Ouarda, 2019).

Depuis longtemps, les plantes médicinales et aromatiques ont été largement utilisées par les populations locales à travers les cinq continents pour soulager et guérir certaines pathologies infectieuses. En effet, les produits naturels provenant des plantes se présente comme une source inépuisable de molécules biologiquement actifs ayant un grand impact pour la santé humaine (Worowounga *et al.*, 2019). Les recherches actuelles et les progrès technologiques accélèrent la découverte et le développement des molécules thérapeutiques à base des plantes avec des activités thérapeutiques améliorées et des effets secondaires réduits. Bien que beaucoup de études aient été réalisées pour évaluer les propriétés antimicrobiennes des produits naturels contre des micro-organismes planctoniques. Toutefois, le pouvoir antibiofilm de ces produits naturels est faiblement étudié.

De nos jours, un grand nombre d'études publiées en ligne ont démontré que la plupart des plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre

part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

L'Algérie, par sa position géographique, est pourvue d'une large gamme d'étages bioclimatiques induisant une biodiversité immense en espèces végétales. En effet, notre pays est caractérisé par une diversité florale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles. Ces espèces sont pour la plupart des cas des plantes spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques. Ceci donne à la pharmacopée traditionnelle algérienne une richesse inestimable (Berreghioua, 2016 ; Bouzina *et al.*, 2018).

En réalité, Plusieurs plantes de la flore algérienne sont largement utilisées comme condiments, aliment naturels ainsi que pour des buts thérapeutiques. Dans le même contexte d'étudier les potentiels thérapeutiques des plantes médicinales, le présent travail de recherche vise à évaluer l'activité antimicrobienne de deux plantes spontanées de notre région envers des micro-organismes pathogènes. Il s'agit des huiles essentielles issues de *Teucrium polium* et *Lavandula multifida*. Cependant, à cause des circonstances exceptionnelles liées à la propagation de l'épidémie COVID-19, ce présent travail n'a pas pu être terminé. Ainsi, nous avons servir des études ultérieure réalisées sur les mêmes espèces pour compléter notre étude.

Ce manuscrit est divisé en deux parties. La première est consacrée à une recherche bibliographique concernant les maladies infectieuses, leurs causes et les mécanismes de résistance des microorganismes, ainsi que des généralités sur les huiles essentielles, leurs compositions et mode d'action. Tandis que dans la deuxième partie, nous présenterons le matériel utilisé, les méthodes et les techniques réalisées au laboratoire. Pour finir, nous avons présenté une analyse des résultats issus de la bibliographie ainsi que leurs interprétations.

Partie
Bibliographique

Chapitre 1 :

Les maladies infectieuses

1. Généralités

Les maladies infectieuses (MI) regroupent toutes les maladies provoquées par un agent infectieux animé (bactéries, virus, parasites, champignons) ou inanimé (toxines, prions,...) ayant l'origine d'infections ou de toxi-infections. Leurs niveaux de contagiosité et leurs modes de transmission diffèrent selon la nature de l'agent infectieux (Wainsten, 2009). Environ, 400 agents infectieux de différents types sont connus. Les infections les plus fréquents en milieu de travail sont dues aux virus et aux bactéries. On redoute alors les infections par le virus du SIDA, ou ceux des hépatites. A titre d'exemple, on peut citer les risques de cancer liés à certains microbes (comme le cancer du foie lié aux virus des hépatites B et C) et maintenant, le COVID-19 le plus dangereux des virus qu'à présent (Chaib, 2020).

2. Causes

2.1. Bactériennes

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires et peuvent survivre partout avec ses propres forces (ex : le bacille de Koch responsable de la tuberculose, *Listeria Monocytogenes* responsable de la listériose, les staphylocoques et streptocoques à l'origine d'infections diverses et de gravités très variables, parfois bénignes et parfois mortelles). La majorité des bactéries sont inoffensives, voire même bénéfiques pour le corps humain. Mais attention ; même bénéfiques, ces bactéries opportunistes peuvent devenir dangereuses pour peu qu'elles soient en surnombre ou se trouvent au mauvais endroit. Il y a des bactéries pathogènes qui provoquent un ensemble de troubles spécifiques chez un hôte infecté tels que la peste, le choléra, la syphilis...etc. Les plus dangereuses sont celles qui causent des maladies infectieuses respiratoires telles que la tuberculose. Ainsi et par principe, toutes les bactéries sont potentiellement pathogènes. Quand un hôte voit ses défenses immunitaires affectées, même leurs bactéries commensales peuvent provoquer des troubles (Chaib, 2020).

2.3. Virales

Les maladies virales, causées par des infections virales pathogènes qui ont des taux de morbidité et de mortalité élevés, sont resté la principale cause de décès chez l'homme dans le monde. Bien que des vaccins efficaces aient conduit ou pourraient conduire à l'éradication d'importants agents pathogènes viraux, tel que la variole, la polio et les oreillons, d'autres maladies virales, comme le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et l'hépatite Virus C (VHC), se sont avérés difficiles à combattre en utilisant l'approche vaccinale conventionnelle (Kitazato *et al.*, 2007).

2.2. Fongiques

Les maladies dues aux champignons sont appelées mycoses. En général, les champignons infectent la peau et les muqueuses (buccales, génitales). Leur apparition est favorisée par la diminution des défenses de notre peau (par exemple en cas d'eczéma, de peau irritée et moite), les champignons peuvent envahir d'autres parties du corps (les poumons par exemple) (Pepin *et al.*, 2007).

3. La résistance des germes envers la chimiothérapie

3.1. Résistance des bactéries aux antibiotiques

On peut dire qu'une souche est résistante lorsqu'elle est capable de supporter une concentration d'un antibiotique beaucoup plus élevée que celle inhibant le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Aguilera-Carbo *et al.*, 2008).

3.1.1 Résistance naturelle

La résistance naturelle est une résistance caractérisant une espèce bactérienne vis-à-vis un antibiotique donné. Elle repose sur divers mécanismes comme l'absence ou la faible affinité de la cible, la mauvaise pénétration de l'antibiotique dans la bactérie soit par imperméabilité ou bien par efflux (la bactérie rejette l'antibiotique) et l'inactivation enzymatique de l'antibiotique. Cette résistance est liée à son « fonds génétique » et contribue à définir le spectre d'activité des antibiotiques.

3.1.2 Résistance acquise

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est la capacité d'une souche à résister envers l'antibiotique en question même si l'espèce dont appartient cette souche est normalement sensible. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale (Meriem et Ouarda, 2019).

3.2. Résistance aux antifongiques

En Mycologie médicale et vétérinaire, on distingue deux types de résistance :

3.2.1 La résistance intrinsèque :

Naturellement présente chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre, peut être due à une absence de concentration de l'antifongique dans la cellule ou à une faible affinité de l'antifongique pour sa cible. Ce processus est bien connu pour la levure *Candida krusei*, naturellement résistante au fluconazole.

3.2.2 La résistance acquise :

Induite par un processus de sélection génétique sous l'effet de l'application répétée d'un antifongique (Guillot et Dannaoui, 2016).

Les mécanismes moléculaires qui rendent compte de ce mode de résistance incluent :

- la modification de la cible de l'antifongique (liée à une ou plusieurs mutations du gène codant pour la cible).
- la surexpression de la cible de l'antifongique (par exemple liée à une modification du promoteur du gène).
- la surexpression de pompes membranaires d'efflux (qui réduisent rapidement la concentration d'antifongiques dans la cellule fongique) (Cuenca-Estrella 2014).

4. Les infections nosocomiales

4.1. Définition

Selon l'OMS, se produisent une infection chez le patient pendant 48 à 72 heures après l'admission à l'hôpital est la définition des infections nosocomiales (INs). Les infections liées aux soins les plus courantes sont la pneumonie, l'infection des voies urinaires (IVU), les infections du site opératoire (ISO) et l'infections de circulation sanguine (ICS) (Mohammadi *et al.*, 2020).

4.2. Principaux microorganismes impliqués

4.2.1 Les bactéries

Les bactéries représentent la majorité des pathogènes responsables d'IN. Parmi les bactéries à Gram négatif, la famille des *Enterobacteriaceae* est la plus représentée. Les genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter* ont également un impact conséquent. Pour les bactéries à Gram positif, revient aux genres *Staphylococcus* et *Enterococcus* (Monnet, 2011).

4.2.2 Champignons et parasites

De nombreux champignons et autres parasites opportunistes sont responsables d'un taux considérable d'IN. Certains parasites (par exemple *Giardia lamblia*) se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant. Certaines espèces fongiques telles que *Candida albicans*, *Aspergillus spp.* *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium* sont la cause majeure d'infection généralisée chez les patients immunodéprimés, surtout en cas de traitement antibiotique prolongé et d'immunodépression sévère chez les patient. La contamination de l'environnement par des germes aéroportés comme *Aspergillus spp.* Présentent dans la

poussière et le sol est également préoccupante, en particulier lors de la construction d'hôpitaux (Maryem, 2016).

4.2.3 Les virus

Il est admis actuellement qu'au moins 5% de toutes les infections hospitalières sont causées par des virus. Il paraît que leur impact est encore sous-estimé. Ce sont avant tout les services de pédiatrie qui sont les plus affectés où le virus respiratoire syncytial, du fait de sa contagiosité extrême et prolongée, est responsable des épidémies nosocomiales. D'autres virus, notamment celui de l'hépatite B, le cytomégalovirus et le virus de l'immunodéficience humaine, du fait de leur transmission à partir du sang et des autres liquides biologiques, peuvent également être responsables d'infections nosocomiales. (Ducel, 2002).

4.3. Impacts des infections nosocomiales

4.3.1. Sur la santé publique

Les infections nosocomiales sont connues dans le monde entier et touchent aussi bien les pays développés que les pays en sous-développement. Les infections contractées en milieu hospitalier figurent parmi les causes majeures de décès et de morbidité accrue parmi les patients. Elles représentent une charge importante pour le patient comme pour la santé publique.

A tout moment, plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent de complication infectieuse acquise à l'hôpital. Les fréquences maximales ont été rapportées dans les hôpitaux des régions de la Méditerranée orientale et de l'Asie du Sud-est (11,8% et 10,0% respectivement), et la prévalence atteignait 7,7% en Europe et 9,0% dans le Pacifique occidental (Ducel, 2002).

4.3.2. Sur le plan économique

Les infections dues à des bactéries multi résistantes comparativement aux infections à des bactéries sensibles sont donc responsables d'un surcoût lié à différents facteurs dont ; la nécessité d'utiliser d'antibiotique dit de réserve, la nécessité de mettre en place de précautions complémentaires à type d'isolement, la nécessité d'effectuer des prélèvements microbiologiques itératifs dans le but non seulement d'identifier l'agent en cause mais aussi d'adapter au mieux les traitements antibiotiques. Enfin l'une des raisons essentielles expliquant le surcoût induit par les infections à bactéries multi résistantes est probablement la prolongation des durées des séjours hospitaliers (Zahar, 2012).

Chapitre 2:
Les huiles essentielles
(HEs)

1. Généralités

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement complexe (Goetz et Ghedira, 2012). Bio synthétisées comme métabolites secondaires par les plantes odorantes, dites aromatiques. Ces plantes se caractérisent par la présence de structures sécrétrices des huiles essentielles dans presque tous leurs organes (fleurs, graines, racines, feuilles, fruits...). et se compose de centaines de molécules aromatiques volatiles et hydrophobes c'est ce qui rend chaque huile polyvalente, avec de nombreuses propriétés et indications, à l'inverse d'un médicament, qui ne renferme généralement qu'une seule molécule, pour un seul usage (Festy, 2014). Les HEs sont obtenues par nombreuses techniques. Cependant, la distillation à la vapeur d'eau est la plus utilisées. Le liquide obtenu appelé communément essence est extrêmement concentré (Boughendjioua, 2017). Aujourd'hui, les HEs sont omniprésentes dans des domaines aussi divers que la parfumerie, la cosmétique, l'agroalimentaire mais aussi dans la recherche pharmaceutique (Rapinel *et al.*, 2017).

2. Chimie des HEs

2.1. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des liquides hydrophobes contenant des composés volatils assez complexes (Voir l'annexe.2). Ce sont des constituants caractérisés par une forte odeur et formés à partir de divers métabolites de plantes appartenant à trois groupes de composés chimiques (Perveen et Al-Taweel, 2018).

- Les composés terpéniques.
- Les composés aromatiques dérivés du phényle-propane.
- Autres composés.

2.1.1 Composés terpéniques

Les terpènes peuvent être considérés comme des dérivés le l'isoprène, ce sont des isoprenoïdes. Après extraction des huiles essentielles, on rencontre seulement les plus volatils dont le poids moléculaire est faible, se sont les monoterpènes et les sesquiterpènes (Guignard 2000).

2.1.2 Les composés aromatiques

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phényl-propane (C6-C3), parmi lesquels se trouvent des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des phénols (chavicol, eugénol), des dérivés méthoxy (anéthol,

estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrol) (Abdelli, 2017). Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HEs (Kunle *et al.*, 2003).

2.1.3 Autres composés

Selon le mode d'extraction utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire entraînés lors de l'hydrodistillation : carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters, éthers ...etc. (Lüttge 2002).

2.2. Métabolisme

Les HEs sont des métabolites secondaires résultants principalement de deux voies de biosynthèse, celle des terpénoïdes, la plus commune, et celle des phénylpropanoïdes. La première voie métabolique débute avec l'Iso-Pentényl-Pyrophosphate (IPP), molécule à cinq atomes de carbones dérivée de l'acétyl CoA, issu lui-même du phosphoénol-pyruvate (PEP) qui provient du glucose. La seconde voie aussi appelée voie du shikimate, fournit les acides aminés aromatiques parmi lesquels la phénylalanine dérivée du PEP essentiel au métabolisme des phénylpropanoïdes (Yann-Olivier, 2015).

2.3. Sécrétion et stockage

La biosynthèse des huiles essentielles est effectuée dans le cytoplasme de cellules sécrétrices variables selon l'organe végétal en question, puis s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule (**Figure 01**). Ensuite, ces substances hydrophobes sont stockées et emmagasinées dans des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (Abdelli, 2017).

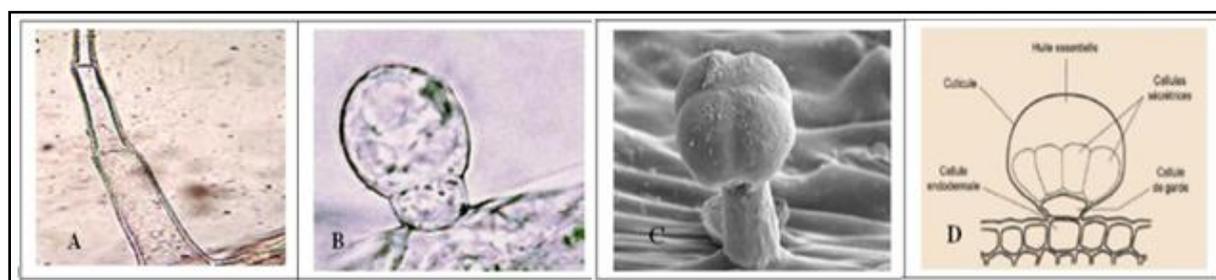


Figure 1. Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles. (A) : poil sécréteur, (B , C) : trichome glandulaire et (D) : structure de trichome glandulaire de *Thymus vulgaris* (Khenaka, 2011).

3. Activité antimicrobienne des HEs

3.1. Envers les bactéries

L'activité antibactérienne d'un HE est attribuée à la nature chimique des molécules aromatiques, leur proportion ainsi que la combinaison entre eux envers plusieurs niveaux de la structure bactérienne (Bouhdid *et al.*, 2012).

On distingue deux sortes d'effets des HEs sur ces microorganismes :

- Effet bactéricide : exerçant une activité létale.
- Effet bactériostatique : entraînant une inhibition de la croissance (Lakhdar, 2015).

3.2. Envers les champignons :

En général, les huiles essentielles agissent sur la biomasse et la production du pseudo-mycélium chez les levures et inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium et la toxicogénèse chez les moisissures. L'activité antifongique des huiles essentielles peut se faire selon deux mécanismes différents ; certains constituants peuvent provoquer une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie de sa rupture entraînant ainsi, une fuite des électrolytes et l'épuisement des acides aminés et des sucres, d'autres peuvent s'insérer dans les lipides membranaires et par conséquent, induire la perte des fonctions membranaires (Abdelli, 2017).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Lamiaceae* comme l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* testée contre *Candida albicans* (Giordani *et al.*, 2008), *Lavandula stoechas* contre *Rhizopus stolonifer* et *Mucor spp* (Mohammedi et Atik, 2012), et *Thymus schimperi* contre *Rhizopus officinalis* (Mekonnen *et al.*, 2016).

3.3. Mode d'action

Jusqu'aux ces jours, les mécanismes de l'activité antimicrobienne des HEs restent ambigus, et ceci est due à leur composition chimique complexe qui présente une diversité de molécules pouvant agir chacune sur une cible différente. D'une façon générale, les HEs peuvent affecter différentes cibles au sein d'une cellule microbienne à partir des niveaux morphologiques jusqu'à des niveaux de régulation en passant par des cibles structurales. Certaines auteurs suggèrent que les HEs peuvent simplement agir sur la membrane cytoplasmique, par perturbation de celle-ci vu son caractère hydrophobe spécifique, ce qui entraînant une augmentation de la perméabilité. L'affection de la membrane cytoplasmique par les HEs peut également perturber le maintien du statut énergétique de la cellule, le transport de soluté (Bouyahya *et al.*, 2017).

4. Activité antibiofilm des HEs

4.1. Généralités sur les biofilms

La plupart des micro-organismes favorisent le mode de vie où la population bactérienne se trouve fixée sur un support (état sessile) plutôt que libre et isolée dans le milieu environnemental (état planctonique). L'attachement sur une surface est une «stratégie de survie» qui permet à la bactérie de s'installer et de coloniser un environnement. L'état planctonique pourrait se réduire au passage de la bactérie d'une surface à l'autre. Après son attachement sur un support, les bactéries mettent et développent en place une communauté organisée à laquelle William Costerton a donné le nom de «biofilm» (Filloux et Vallet, 2003).

4.2. Inhibition de la formation des biofilms par les HEs

Les huiles essentielles à faible concentration inhibent la formation des biofilms bactériens par plusieurs mécanismes. Notamment, l'activation des gènes de réponse contre stress qui à leur tour diminuent la production des polysaccharides extracellulaires (Benbelaid, 2015). En plus, les huiles essentielles peuvent interagir avec les protéines des surfaces bactériennes ce qui inhibe leur fixation et du coup la formation du biofilm. Considérablement réduit l'adhérence microbienne à la surface et la viabilité des cellules (Zhihui *et al.*, 2020).

4.3. Éradication des biofilms par les HE

Il est connu que les biofilms microbiens sont difficiles à éradiquer par les agents antimicrobiens standards, tels que les antiseptiques, les désinfectants et les antibiotiques. Par contre grâce à des études réalisées récemment, les huiles essentielles sont avérées très efficaces vis-à-vis des biofilms microbiennes, où elles peuvent agir de plusieurs façons (Burt, 2004). Ont la possibilité d'éradiquer les biofilms microbiennes par solubilisation de leur matrice extracellulaire. D'autres auteurs indiquent que les huiles essentielles sont aptes de diffuser à travers la matrice polysaccharidique du biofilm et de la déstabiliser, en raison de leur forte propriété antimicrobienne intrinsèque (Ouhayoun, 2003). Tel que :

- Modification de l'hydrophobicité de surface des germes.
- Diminution de l'adhérence par inhibition compétitive des pilis.
- Altération non spécifique des bicouches lipidiques.
- Répression de l'expression de certains gènes et diminution de synthèse de protéines, de polysaccharides, d'ATP, du biofilm en général (Dupin, 2017).

Partie

Expérimentale

Chapitre 3:

Matériel et méthodes

Le présent travail est réalisé dans le cadre de la préparation d'un mémoire de Master en Microbiologie Appliquée à l'Université de Mohammed khider Biskra, laboratoire pédagogique de microbiologie de Département des sciences de la nature et de la vie.

3.1. Les huiles essentielles

3.1.1. Source du matériel végétal

Deux plantes médicinales appartenant à la famille des *Lamiaceae* (Voir l'annexe.3) ont été sélectionnées pour cette étude, en fonction de leur utilisation traditionnelle dans les traitements des différentes pathologies infectieuses. Les plantes faisant l'objectif de ce travail ont été collectées de différentes régions de la wilaya de Biskra à savoir, Elhadjeb, Brainais. Concernant les espèces étudiées, il s'agit de Pouliot de montagne, connue en Arabe ; الخياطة, son nom scientifique est *Teucrium polium*, et Lavande en Arabe ; الخزامة, son nom scientifique est *Lavandula multifida*.

La récolte du matériel végétal a été effectuée en pleine inflorescence comme suivant *Teucrium polium* au mois de Janvier 2020, à Elhadjeb, *Lavandula multifida* au mois de Février 2020 à Brainais, (**Figure02**).



(A) : *Teucrium polium*.

(B) : *Lavandula multifida*.

Figure 2. Les plantes étudiées en pleine inflorescence.

3.1.2. Obtention des huiles essentielles

La récupération des huiles essentielles a été effectuée par hydro distillation (**Figure 03**) à l'aide d'un montage de type Clevenger (Européenne, 2012). Le processus consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un

alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sortant du ballon sont condensées à l'aide d'un refroidisseur puis récupérées dans une burette ou le volume est lu directement. Grâce à sa densité généralement inférieure à celle de l'eau, l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat et reste flottée en dessus. Le processus d'extraction dure en principe de 3 à 5 heures selon les espèces.



Figure 3. L'appareil d'extraction des huiles essentielles par hydro distillation « Clevenger ».

3.1.3. Conservation

La conservation des huiles essentielles est difficile, ceci est dû à l'instabilité de leurs molécules. De ce fait, les possibilités de dégradation sont nombreuses. Cependant, il est possible de limiter celles-ci en utilisant des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche, puis stockés à basse température, ou conservés sous atmosphère d'azote (Goffard et Armand, 2000).

Après extraction, les huiles essentielles récupérées ont été déshydratées sur le sulfate de magnésium ($MgSO_4$), puis conservées à 4 °C dans des flacons spécifiques fumés jusqu'à leur utilisation.

3.2. Les souches étudiées

Les activités antimicrobiennes et anti-biofilm des huiles essentielles étudiées ont été testés sur des souches de référence (bactériennes et fongiques), responsables de différents infections pathologiques. Sept souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) ont été utilisées dans cette étude à savoir : *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis*

ATCC 49452, *Bacillus cereus* ATCC 11678, *Staphylococcus aureus* 33802, et la levure de *Candida albicans* ATCC 10231, obtenues de la part de laboratoire LAMAABE, université de Tlemcen.

3.2.1. Mise en culture des souches microbiennes

La revivification, purification et conservation de ces souches de référence ont été effectuées ainsi :

A partir des cultures conservées, des gouttes de culture bactériennes sont prises à l'aide d'une anse de platine. Ces gouttelettes sont inoculées dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth), puis incubés pendant 24 h à 37 °C pour leur enrichissement (**Figure 04**).



Figure 4. Enrichissement des souches de référence.

Après l'enrichissement, les cultures sont ensemencées par méthode d'épuisement sur les milieux sélectifs (Voire l'annexe.4) ci-dessous pour leur purification :

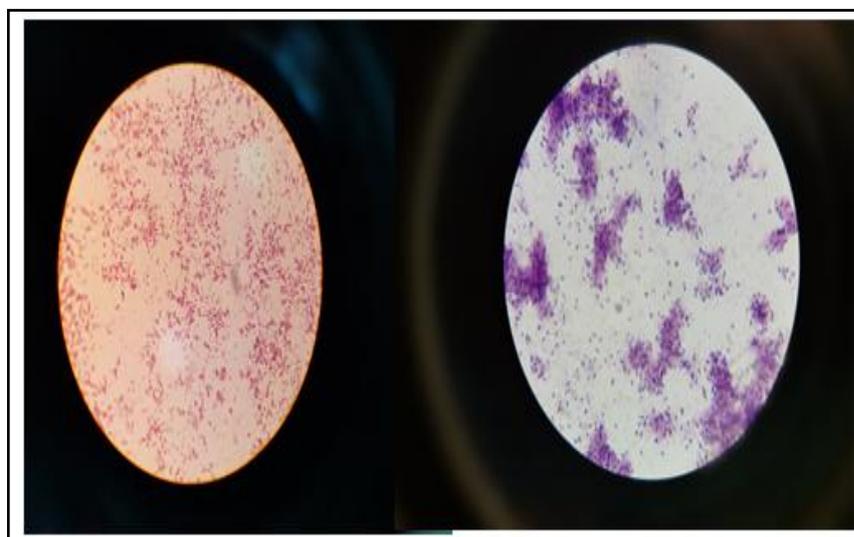
- Gélose Mac-conkey : *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Gélose Hektoen : *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603.
- Gélose BEA (bile esculine azide) : *Enterococcus faecalis* ATCC 49452.
- Gélose Chapman : *Staphylococcus aureus* ATCC 33802.
- Gélose Sabouraud : *Candida albicans* ATCC 10231.

- Gélose Mossel : *Bacillus cereus* ATCC 11678.
- Gélose BCP : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



Figure 5. Aspect des colonies après l'ensemencement.

Après incubation des souches de référence, des colorations de Gram ont été effectuées pour confirmer et s'assurer de l'identification des souches (**Figure 06**). Ensuite, les souches pures et bien identifiées ont été conservées sur une gélose nutritive inclinée à 4 °C.



(A) : *Escherichia coli*

(B) : *Enterococcus faecalis*

Figure 6. Coloration de Gram de quelques souches de référence.

3.3. Activités antimicrobiennes des Huiles essentielles

3.3.1. Préparation des inocula

En boîte de pétri (3 disque par boîte) préalablementensemencées la souche à tester sur bouillon Müller-Hinton a été préalablement préparée à une concentration $\approx 10^8$ UFC/ml en mesurant la DO (abr) à 625 nanomètre entre 0,08 et 0,13 (Hussain *et al.*, 2013).

3.3.2. Aromatogramme

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées a été évaluée par la technique d'aromatogramme (Bayer *et al.*, 1966). Appelée aussi technique de diffusion en gélose ou méthode de Vincent.

Pour effectuer cette méthode, des boîtes de pétri remplies par un milieu de culture solide (gélose MH pour les bactéries et la gélose sabouraud pour les champignons) sontensemencées par écouvillonnage en nappe à partir des inocula standardisés à 10^8 UFC/ml, selon les recommandations de CLSI. Puis des disques en papier (Whatman No. 3 de 6 mm de diamètre) imprégnés de 5 μ l de l'HE ont été déposés sur la surface de la gélose préensemencée. Ensuite, les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 18-24 h pour les bactéries, à 30 °C pendant 24-48h pour la levure. Après incubation, le diamètre de zone d'inhibition est mesuré en millimètres (mm) à l'aide d'un pied à coulisse.

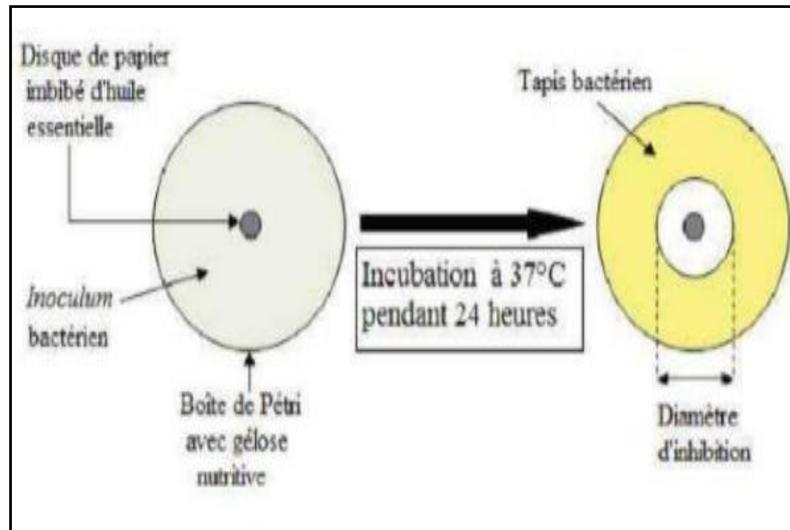


Figure 7. Principe de l'aromatogramme.

3.3.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI » des huiles essentielles

La détermination des concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles étudiées été effectuée à l'aide des microplaques stériles de 96 puits, avec quelques modifications de la technique de (Wiegand *et al.*, 2008), Tout d'abord, l'huile essentielle a

subi des dilutions successives au 1/2 dans le bouillon Müller-Hinton en ajoutant le Tween 80 pour une concentration de 1% dans le but d'avoir une miscibilité totale de l'huile dans le bouillon. Une deuxième solution dite blanche a été préparée avec le bouillon Müller-Hinton et le Tween 80 avec une même concentration de 1% additionnée pour garder la concentration de ce dernier constante. Ensuite, l'inoculum à 10^8 UFC/ml a été dilué au 1/1000 pour avoir une concentration $\approx 10^5$ UFC/ml. Puis, un volume de 90 μ l de la suspension bactérienne à 10^5 UFC/ml a été déposé dans les puits de la microplaque.

Ensuite, 10 μ l de la solution de l'huile essentielle a été ajouté. La fourche de concentrations finales obtenues dans les puits de (1 à 10) était comprise entre 4% et 0,008%. L'onzième puits est rempli par 100 μ l de bouillon stérile comme témoin négatif pour vérifier les contaminations. Tandis que le douzième puits est rempli par la suspension microbienne additionnée de Tween 80 à 0.1% pour vérifier l'effet de celui-ci, il s'agit du témoin positif.

Les résultats ont été déterminés après incubation de 24 h à 37°C pour les souches bactériennes et à 30 °C pendant 24-48h pour la levure. La CMI est définie comme étant la plus faible concentration d'huile capable d'inhiber toute croissance visible à l'œil nu des germes.

3.3.4. Détermination des CMI de la formation de biofilm

Les CMI de la formation des biofilms ont été déterminées selon la méthode de Labrecque *et al.* (2006). Après l'incubation 24 à 48 h et lecture des CMI de la croissance, les cellules microbiennes flottantes sont éliminées par aspiration à l'aide d'une seringue, puis les puits sont ainsi rincés trois fois à l'eau distillée pour éliminer les cellules faiblement adhérentes. Ensuite, à l'aide d'une micropipette, 100 μ l de cristal violet à 0.4% est ajouté dans chaque puits pendant une durée de 15 min pour colorer les biofilms. Après, les puits sont alors rincés quatre fois à l'eau distillée pour éliminer le cristal violet non lié, puis les microplaques sont laissées séchées pendant 2 h à 37 °C. A la fin, 100 μ l d'éthanol à 95 % (v/v) est ajouté dans chaque puits, et la plaque est agitée pendant 10 min afin de libérer la coloration à partir des biofilms.

Les CMI de la formation de biofilms sont déterminées en tant que la plus faible concentration du produit à tester (l'huile essentielle ou le standard) pour laquelle la coloration n'est pas observée à l'œil nu (Beckloff *et al.*, 2007).

Chapitre 4:

Résultats et discussions

4.1 Rendements en huiles essentielles

Les rendements en huiles essentielles en pourcentage (%) volume/poids (v/p) calculés par rapport au poids frais (classes par ordre décroissant) et la durée d'extraction faite pour chaque espèce végétale sont récapitulés dans le (**Tableau. 1**).

Tableau. 1 Rendement en huiles essentielles.

Espèces	Teneur %	Durée (h)
<i>Teucrium polium</i>	1,7	3
<i>Lavandula multifida</i>	0,7	3

Les résultats du (**Tab.1**) montrent que les plantes étudiées avaient des teneurs relativement faibles notamment pour l'espèce *Lavandula multifida* (0.7%), alors que l'espèce *Teucrium polium* (1.7%), présente un rendement moyen de 1.7% par rapport au poids frais.

D'après la bibliographie, nous avons trouvé des études ayant rapporté les rendements en huiles essentielles des mêmes espèces étudiées (**Tab.2**). Concernant l'espèce *Teucrium polium*, on remarque que nos résultats d'extraction sont en accord avec l'étude de (Kabouche *et al.*, 2007). Alors que d'autres auteurs Belmekki *et al.* (2013) et Raei *et al.* (2014), ont rapporté des teneurs en huiles essentielles remarquablement faibles par rapport aux miennes pour cette espèce de *Teucrium*. D'autre part, les mêmes constats sont remarqués pour l'espèce *Lavandula multifida*. Il est à signaler que cette légère différence de rendement en HE dépend de nombreux facteurs tels que, l'espèce, l'âge de la plante, la partie de la plante traitée, l'état du matériel végétal avant utilisation, la période de récolte, l'origine géographique (effet du milieu), le mode d'extraction et la durée de distillation (Abdelmounaim, 2013).

Tableau 2. Comparaison des rendements en huiles essentielles des plantes étudiées avec d'autres travaux.

Espèce	Rendement %	Références
<i>Teucrium polium</i>	1,7	Nous-mêmes
	1,7	(Kabouche <i>et al.</i> , 2007)
	0,2	(Belmekki <i>et al.</i> , 2013)
	0,5	(Raei <i>et al.</i> , 2014)
<i>Lavandula multifida</i>	0,7	Nous-mêmes
	0,7	(Sellam <i>et al.</i> , 2013)
	0,4	(Benbelaïd <i>et al.</i> , 2014)
	0,2	(Abdelmounaim <i>et al.</i> , 2016)

4.2 Effets des huiles essentielles étudiées sur les souches de références

4.2.1 Diamètres des zones d'inhibition

Dans cette partie du travail, nous sommes intéressés à étudier l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux plantes médicinales envers les souches de références sélectionnées. A cause des circonstances exceptionnelles nous sommes basés sur des données bibliographiques. Les résultats des diamètres des zones d'inhibitions des huiles essentielles sont présentés dans le (Tab.3).

Tableau 3. Diamètres d'inhibitions des huiles essentielles étudiées.

Souches	Diamètre d'inhibition (mm)	
	<i>Teucrium polium</i>	<i>Lavandula multifida</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6 ^a	28 ^f
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	15 ^a	25 ^g
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11678	16.5 ^b	30.9 ^f
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	16 ^a	17.2 ^f
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	23 ^c	18 ^g
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	15 ^d	8 ^g
<i>Candida albicans</i> ATCC 10321	13.7 ^e	32 ^g

a : (Belmekki *et al.*, 2013), **b :** (Lograda *et al.*, 2014), **c :** (Raei *et al.*, 2014), **d :** (Sevindik *et al.*, 2016), **e :** (Kerbouche *et al.*, 2015), **f :** (Sellam *et al.*, 2013), **g :** (Benbelaid *et al.*, 2012).

D'après les résultats présentés ci-dessus, on remarque bien que l'huile essentielle la plus active contre les souches microbiennes est celle de *Lavandula multifida*, avec formation des larges zones d'inhibition comprises entre 17-32mm. L'huile de *Teucrium polium* a également montré une bonne activité antimicrobienne traduite par des zones d'inhibitions plus au moins larges 13-23mm. D'un autre côté, nous avons remarqué que l'huile essentielle de *Lavandula multifida* était plus active envers les bactéries à Gram positif 25-30 mm par rapport aux souches à Gram négatif 8-18 mm. Concernant l'activité antifongique, il est constaté que l'effet inhibiteur exercé par l'huile essentielle de la lavande contre *C. albicans* est remarquablement fort avec un diamètre égal à 32 mm. Tandis que l'espèce *Teucrium polium* présente une activité moyenne de 13.7 mm.

Des travaux ultérieurs confirment que l'huile essentielle de *Teucrium polium* possède un effet antimicrobien significatif contre un large éventail de microorganismes (Fertout-Mouri *et al.*, 2017 ; Othman *et al.*, 2017 ; Saleh *et al.*, 2020).

Selon Belmekki *et al.* (2013), les diamètres des zones d'inhibition obtenus en testant l'huile sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, et *Escherichia coli* ATCC 25922 étaient 16 mm, 15 mm et 16 mm, respectivement. Les résultats sont plus ou moins semblables à ceux obtenus par Fertout-Mouri *et al.* (2017), pour *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec un diamètre de 17.5 mm. Par contre, la souche *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 semble beaucoup plus sensible avec un diamètre de 21 mm (Othman *et al.*, 2017). Tandis que la souche d'*Escherichia coli* ATCC 25922 semble beaucoup moins sensible avec un diamètre de 10 mm. Dans une autre étude réalisée par Kabouche *et al.* (2005), sur une variété de microorganismes les auteurs ont montré que *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 était plus sensible avec une large zone d'inhibition de 52 mm. Contrairement à celles obtenues par Raei *et al.* (2014), (23 mm).

D'autre part, l'étude réalisée par Lograda *et al.* (2014), en étudiant l'effet de l'huile essentielle de *Teucrium polium* de trois régions différentes vis-à-vis *Bacillus cereus* ATCC 11678, montre une activité antimicrobienne significative avec des halos d'inhibition comprises entre 16.5-48.7 mm. Ces résultats sont confirmés par l'étude de Akin *et al.* (2010), dans laquelle les auteurs ont trouvé que *Bacillus cereus* est la souche la plus sensible envers l'huile essentielle de *Teucrium* parmi les souches testés.

Néanmoins, certains auteurs ont rapporté l'inefficacité de l'huile essentielle de *Teucrium polium* envers *Pseudomonas aeruginosa* (Purnavab *et al.*, 2015 ; Smahane *et al.*, 2016).

Le potentiel antifongique de l'huile essentielle de *Teucrium polium* a été testé dans de nombreuses études, notamment envers la levure *Candida albicans*. Par exemple, l'étude de Kabouche *et al.* (2005), montre une activité d'inhibition importante de *Teucrium* avec un diamètre de 13.7 mm. Cependant, Smahane *et al.* (2016), ont rapporté des zones d'inhibition moins large de 10.33 mm.

Par ailleurs, l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de l'espèce *Lavandula multifida* a été également étudiée dans de nombreux travaux. Selon Sellam *et al.* (2013), l'évaluation de l'activité antimicrobienne de cette Lavande envers *S.aureus*, *E.coli*, et *B.cereus* a montré que cette dernière possède un effet puissant avec des diamètres d'inhibition de 28, 17.2, 30.9 mm, respectivement. Dans le même contexte, Abdelmounaim *et al.* (2016), a trouvé une zone d'inhibition 22 mm de diamètre en testant l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la même souche de *S. aureus*. Benbelaid *et al.* (2012), confirme également la

sensibilité remarquable de *B.cereus* envers cette huile avec une zone d'inhibition de 35 mm même si il a utilisé uniquement 2µl de l'extrait par disque. Douhri *et al.* (2014), montre que la souche *E.coli* semble moins sensible avec un diamètre de 9.5 mm.

D'autres auteurs ont également élucidé le potentiel antimicrobien de l'espèce *Lavandula multifida*. Benbelaid *et al.* (2012), ont testé cette huile essentielle sur un large éventail de microorganisme. Parmi les résultats obtenues, deux bactéries à Gram négatif à savoir, *P. aeruginosa* et *K.pneumeuniae* montre des diamètres d'inhibition de 8 et 18 mm, respectivement. C'est résultats sont similaires à ceux obtenus par Sellam *et al.* (2013), soit 7.8 mm en utilisent les mêmes concentrations vis-à-vis la souche de *P.aeruginosa*. Cependant, la souche de *C.albicans* est le microorganisme le plus sensible envers l'huile essentielle de *Lavandula multifida* avec des zones d'inhibition allant de 32 à 33.7 mm (Zuzarte *et al.*, 2012).

4.2.2 CMI de la croissance

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles étudiées a été effectuée par la méthode des dilutions en milieu liquide. C'est une technique quantitative qui permet la détermination de l'intervalle des concentrations inhibant effectivement la croissance bactérienne. Les résultats de l'analyse bibliographique sont représentés dans le (Tab.4) ci-dessous.

Tableau 4. Concentration minimal inhibitrice (%) des huiles essentielles étudiées.

Souches	Concentration minimale inhibitrice CMI %	
	<i>Teucrium polium</i>	<i>Lavandula multifida</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.300 ^a	0.039 ^e
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0.500 ^a	0.250 ^f
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11678	0.078 ^b	0.039 ^e
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.400 ^a	0.078 ^e
<i>Klebsiella pneumeuniae</i> ATCC 70603	0.062 ^c	0.500 ^f
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.062 ^d	0.156 ^e
<i>Candida albicans</i> ATCC 10321	ND	0.063 ^f

a : (Belmekki *et al.*, 2013), **b :** (Zare *et al.*, 2011), **c :** (Raei *et al.*, 2014), **d :** (Othman *et al.*, 2017), **e :** (Khalid 2013), **f :** (Benbelaid *et al.*, 2012), ND : Non déterminé.

D'après les résultats ci-dessus on constate que l'huile essentielle la plus efficace dans l'inhibition de la croissance des souches étudiées est celle de *Lavandula multifida* avec des concentrations très faibles allant de 0.039 % à 0.5 %. Tandis que l'huile essentielle de

Teucrium polium c'est avérée moins efficace avec des concentrations plus au moins élevées allant de 0.062% à 0.5%. Cependant, ces valeurs indiquent quand-même que cette huile essentielle possède une activité antimicrobienne intéressante. Il est à noter également qu'il y'a une concordance entre les résultats des CMI avec ceux des zones d'inhibitions (aromatogramme) concernant l'huile la plus active.

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* réalisée par Sellam *et al.* (2013), sur des souches bactériennes montre que l'huile possède un fort potentiel antimicrobien avec des CMI très faibles surtout vis-à-vis des souches à Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11678 de 0.039 %. Tandis que les souches à Gram négatif *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 étaient moins sensibles avec de 0.078% et 0.156% de CMI enregistrées respectivement. Une autre étude faite par Benbelaid *et al.* (2012), sur une large variété des souches de références et cliniques, montre que la souche *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 est plus ou moins résistante avec une CMI de 0.250%, ce qui en accord avec leur travail ultérieur (Benbelaid *et al.*, 2014). D'autres études confirment ces résultats, Selon Douhri *et al.* (2014), l'huile essentielle de *Lavandula multifida* semble active envers *S.aureus* avec une CMI de 1%, *E. coli* 4%. Tandis que, la souche *P. aeruginosa* est la plus résistante dans toutes ces études rapportées. L'activité antifongique de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* a été également évaluée. D'après Zuzarte *et al.* (2012) seulement une concentration de 0.032% suffit pour inhiber la croissance de *Candida albicans* ATCC 10321. Ce résultat est confirmé par (Benbelaid *et al.*, 2012).

D'autre part, selon l'étude bibliographique nous avons constaté que l'effet inhibiteur exercé par l'huile essentielle de *Teucrium polium* est plus ou moins faible. Par exemple, dans l'étude effectuée par Belmekki *et al.* (2013), les auteurs ont trouvé les CMI de 0.3%, 0.4%, et 0.5%, envers les souches *S.aureus*, *E.coli*, *E. faecalis*, respectivement. Selon Smahane *et al.* (2016), l'espèce *S.aureus* semble plus sensible avec une CMI de 0.13%. Les bactéries à Gram négatif sont plus sensibles vis-à-vis l'huile essentielles de *Teucrium polium* à savoir *K.pneumoniae*, et *P. aeruginosa* avec des CMI de 0.062% et 0.016%, respectivement (Kabouche *et al.*,2005). D'autres auteurs ont trouvé que l'espèce *E.coli* est la plus sensible envers *Teucrium polium* (Raei *et al.*, 2014). Toutefois, d'autres auteurs ont noté l'inefficacité de cette huile essentielle sur *P. aeruginosa* (Purnavab *et al.*, 2015 ; Smahane *et al.*, 2016).

Dans d'autres études, la susceptibilité envers l'huile essentielle de *Teucrium polium* a été particulièrement importante chez *B.cereus* avec une CMI de 0.078%. Cependant, Belmekki *et al.* (2013), ont enregistré une CMI de 0.5% pour la même souche. Concernant l'activité antifongique, il à noter que la CMI est non déterminée pour la levure *C.albicans* dans nombreux études rapportées (Smahane *et al.*, 2016 ; Saleh *et al.*, 2020).

4.2.3 CMI des biofilm

Les données de la littérature sur la CMIB (concentration inhibitrice de biofilm) sont rares et le nombre des souches testés est très limité. C'est dans cette optique s'inscrit notre étude consistée à tester l'effet des huiles essentielles sur des biofilms déjà formés de large éventail de microorganismes. Cependant, il y'a une étude faite par Benbelaïd *et al.* (2014), qui rapporte l'effet de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur le CMIB et l'éradication du biofilm d'*Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Les auteurs ont trouvé que le CMIB est 0.38% (v/v) qui été plus élevée que les CMI de la croissance planctonique 0.25% (v/v), et une concentration d'éradication de 0.75%. D'autre part, Elmasri *et al.* (2014), indique que les sesquiterpènes extraire de *Teucrium polium* ont la capacité de bloquer la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus*.

Les activités biologiques des huiles essentielles sont généralement liées à leur profile chimique (Kamatou *et al.*, 2007). Les huiles essentielles sont constituées d'un mélange complexe de molécules, ce qui rendre difficile la détermination de constituants responsables de l'activité antimicrobienne (Hazzit *et al.*, 2009). En effet, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est le plus souvent attribuée à ses composés majoritaires. Cependant, plusieurs auteurs ont suggéré que l'effet synergique ou antagoniste entre les composés d'une huile essentielle doit être pris en considération pour expliquer ses activités biologiques (Burt, 2004 ; Delamare *et al.*, 2007 ; Zouari *et al.*, 2011 ; Haddouchi *et al.*, 2013).

Il a été fréquemment rapporté que les bactéries à Gram négatif sont moins sensibles aux huiles essentielles et leurs composés que les bactéries à Gram positif (Cardile *et al.*, 2009 ; Haddouchi *et al.*, 2013). Cette susceptibilité différentielle à l'effet des huiles essentielles est attribuée à la présence d'une paroi cellulaire à double membrane plasmique chez les bactéries à Gram négatif qui empêche ainsi la pénétration des molécules hydrophobes à la cellule bactérienne en limitant leur diffusion (Burt, 2004 ; Ruiz-Navajas *et al.*, 2012). Par conséquent, l'absence de cette barrière chez les bactéries à Gram positif permet un contact direct des constituants hydrophobes des huiles essentielles avec la bicouche phospholipidique de la

membrane cytoplasmique. Ceci permet la solubilisation des huiles essentielles dans la membrane en provoquant une déformation de sa structure et une augmentation de sa perméabilité. Ces modifications entraînent une fuite d'ions et des constituant intra cellulaires et des troubles dans le système enzymatique chez la bactérie testée (Cowan, 1999).

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles de l'espèce *Lavandula multifida* et *Teucrium polium* pourrait être attribué à la présence des composants antifongiques classées dans la liste des constituants à activité antifongique de Duke (2002), tels que : le myristicine, le curcumène, le caryophyllène, l'élémicine, le pinène, le terpinène et le terpinolène à différentes proportions. En effet, Zuzarte *et al.* (2012), indique que l'activité antifongique de *Lavandula multifida* est due essentiellement à la présence du carvacrol. Les pinènes quant à eux peuvent détruire l'intégrité cellulaire en inhibant la respiration et les processus de transport ionique. Egalement, ces molécules hydrophobes peuvent augmenter la perméabilité des mitochondries chez les levures (Uribe *et al.*, 1985). Par ailleurs, certains composés des huiles essentielles (Thymol), peuvent agir contre les champignons en altérant la morphologie des hyphes et en formant des agrégats. Ce qui entraîne une réduction des diamètres des hyphes et la lyse de leur paroi (Soylu *et al.*, 2007).

Conclusion

Conclusion

Dans le présent travail, nous sommes intéressés à évaluer l'activité antimicrobienne de deux plantes largement utilisées dans la médecine traditionnelle de notre région de Biskra. Il s'agit des huiles essentielles de *Lavandula multifida* et *Teucrium polium* testées vis-à-vis des souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Klebsiella pneumoniae*), ainsi que une espèce fongique à savoir la levure de *Candida albicans*.

L'hydrodistillation de la partie aérienne des plantes étudiées nous a permis d'obtenir des huiles essentielles avec des rendements et des aspects qui diffèrent d'une espèce à l'autre. Nous avons constaté que l'espèce *Teucrium polium* a donné un rendement acceptable de 1.7% contrairement à l'espèce *Lavandula multifida* qui est en effet une plante pauvre en huiles essentielles (0.7%).

L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode d'aromatogramme a montré que les deux huiles essentielles étudiées possèdent une activité intéressante vis-à-vis les sept souches de référence testées. L'huile essentielle de *Lavandula multifida* était la plus active principalement envers les bactéries à Gram positif (*S.aureus*, *B.cereus*, *E.faecalis*) avec des zones d'inhibition très larges de 28-25-30.9 mm, respectivement. Ainsi que vis-à-vis la levure *Candida albicans* envers laquelle la plus grande zone d'inhibition a été enregistrée (32 mm). Cependant, l'effet de l'huile de la lavande était plus ou moins important vis-à-vis les souches à Gram négatif (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) avec des zones allant de 8 à 18 mm de diamètre. D'autre part l'espèce *Teucrium polium* a démontré une activité moins importante par rapport à la lavande avec des diamètres des zones d'inhibition compris entre 13.7 et 23 mm pour toutes les souches étudiées.

Les résultats de l'aromatogramme sont confirmés par la méthode des micro-dilutions en milieu liquide (CMI) avec des valeurs allant de 0.039% à 0.500%, signifiant une activité antimicrobienne efficace, notamment pour l'huile essentielle de *Lavandula multifida*. Les concentrations les plus faibles ont été enregistrées pour la levure *Candida albicans* ainsi que les souches à Gram positif précédemment mentionnées.

Les travaux effectués sur l'inhibition de la croissance microbienne décrivent que cette dernière dépend de deux facteurs primordiaux à savoir l'espèce bactérienne testée et l'efficacité de l'huile essentielle. Concernant l'effet de souche, les résultats ont montré que les microorganismes sont classés selon leur sensibilité envers l'huile essentielle dans l'ordre

suivant : *S.aureus*, *B.cereus*, *E.fecalis*, *C.albicans*, *K. pneumeuniaie*, *E.coli*, et en dernier *P. aeruginosa* qui présente ainsi la plus grande résistance.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antimicrobiens ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les huiles essentielles. Ceci dans le but d'identifier les molécules responsables des différentes activités biologiques de ces composés. L'ensemble des résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement actives. Ainsi, une étude *in vivo* est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antimicrobiennes et antifongique de ces plantes.

Références bibliographique

Références

Abdelli, W. 2017. Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*, Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem. 214 p.

Abdelmounaim K. 2013. Effet inhibiteur de certains extraits de plantes aromatiques sur des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline SARM isolées du CHU de Tlemcen Thèse de doctorat d'état, Université d' Tlemcen, Algérie. 158 p

Abdelmounaim, K., M. Bendahou, F. Benbelaid, M. A. Abdoune, C. Bellahcene, F. Zenati, A. Muselli, J. Paolini, and J. Costa. 2016. Chemical Composition and Anti-MRSA Activity of Essential Oil and Ethanol Extract of *Lavandula multifida* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 19 (3):712-718.

Aguilera-Carbo, A., C. Augur, L. A. Prado-Barragan, E. Favela-Torres, and C. N. Aguilar. 2008. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied microbiology and biotechnology* 78 (2):189-199.

Akin, M., D. Oguz, and H. Saracoglu. 2010. Antibacterial Activity of Essential oil from *Thymbra spicata* var. *spicata* L. and *Teucrium polium* (Stapf Brig.). *interventions* 8 (9):53-58.

Bouhaddouda, N. (2016). Activités antioxydants et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*, thèse doctorat, université de Annaba, p.24

Bayer, A., W. Kirby, J. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J clin pathol* 45 (4):493-496.

Beckloff, N., D. Laube, T. Castro, D. Furgang, S. Park, D. Perlin, D. Clements, H. Tang, R. W. Scott, and G. N. Tew. 2007. Activity of an antimicrobial peptide mimetic against planktonic and biofilm cultures of oral pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 51 (11):4125-4132.

Belmekki, N., N. Bendimerad, and C. Bekhechi. 2013. Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research* 7 (14):897-902.

Benbelaid, F. 2015. Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire, Thèse de doctorat, Université de Tlemcen, Algérie. 169 p.

Benbelaid, F., M. Bendahou, A. Khadir, M. Abdoune, C. Bellahsene, F. Zenati, W. Bouali, and D. Abdelouahid. 2012. Antimicrobial activity of essential Oil of *lavandula multifida* l. *J Microbiol Biotech Res* 2:244-247.

Benbelaid, F., A. Khadir, M. A. Abdoune, M. Bendahou, A. Muselli, and J. Costa. 2014. Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in both planktonic and biofilm state. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 4 (6):463-472.

Berreghioua, A. 2016. Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux *Brassicaceae* médicinales du sud algérien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*, Thèse de doctorat, Université Abou Bakr Belkaid –Tlemcen, 231 p.

Boughendjioua, H. 2017. Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* cultivées dans la région de Skikda-Algérie. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Lavandula officinalis* grown in the region of Skikda-Algeria. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.

Bouhdid, S., J. Abrini, D. Baudoux, A. Manresa, and A. Zhiri. 2012. Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal de Pharmacie Clinique* 31 (3):141-148.

Bouyahya, A., Y. Bakri, A. Et-Touys, A. Talbaoui, A. Khouchlaa, S. Charfi, J. Abrini, and N. Dakka. 2017. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*:1-11.

Bouzina, A., K. Bechlem, H. Berredjem, B. Belhani, I. Bechecker, J. Lebreton, M. Le Borgne, Z. Bouaziz, C. Marminon, and M. Berredjem. 2018. Synthesis, Spectroscopic Characterization, and In Vitro Antibacterial Evaluation of Novel Functionalized Sulfamidocarbonyloxyphosphonates. *Molecules* 23 (7):1682.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology* 94 (3):223-253.

Cardile, V., A. Russo, C. Formisano, D. Rigano, F. Senatore, N. A. Arnold, and F. Piozzi. 2009. Essential oils of *Salvia bracteata* and *Salvia rubifolia* from Lebanon: Chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells. *Journal of Ethnopharmacology* 126 (2):265-272.

CHAIB, R. 2020. Les risques liés aux agresseurs biologiques. *Journal article* (14).

- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews* 12 (4):564-582.
- Cuenca-Estrella, M. 2014. Antifungal drug resistance mechanisms in pathogenic fungi: from bench to bedside. *Clinical Microbiology and Infection* 20:54-59.
- Delamare, A. P. L., I. T. Moschen-Pistorello, L. Artico, L. Atti-Serafini, and S. Echeverrigaray. 2007. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food chemistry* 100 (2):603-608.
- Douhri, B., H. Douhri, A. Farah, M. Idaomar, N. S. Senhaji, and J. Abrini. 2014. Phytochemical analysis and antibacterial activity of essential oil of *Lavandula multifida* L. *Int J Innov Sci Res* 1:116-126.
- Ducel G. (2002) .Prévention des infections nosocomiales .organisation mondial de la santé, 2^{ème} édition .Fondation Hygie : Genève, suisse .80P.
- Duke, J. A. 2002. *Handbook of medicinal herbs*: CRC press.
- Dupin, A. 2017. Intérêts des huiles essentielles dans la lutte contre l'anti-biorésistance induite par les biofilms, Thèse du diplôme de Docteur en pharmacie, Université de Claude Bernard, France, 221p.
- Elmasri, W. A., M.-E. F. Hegazy, M. Aziz, E. Koksall, W. Amor, Y. Mechref, A. N. Hamood, D. B. Cordes, and P. W. Paré. 2014. Biofilm blocking sesquiterpenes from *Teucrium polium*. *Phytochemistry* 103:107-113.
- Européenne, P. 2012. Huiles essentielles, Conseil de l'Europe.
- Fertout-Mouri, N., A. Latrèche, Z. Mehdadi, F. Toumi-Bénali, and M. Khaled. 2017. Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie* 15 (6):346-353.
- Festy, D. 2014. *Huiles essentielles: le guide visuel*: Éditions Leduc. s.
- Filloux, A., and I. Vallet. 2003. Biofilm: mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *M/S: médecine sciences* 19 (1):77-83.
- Giordani, R., Y. Hadeif, and J. Kaloustian. 2008. Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 79 (3):199-203.
- Goetz, P., and K. Ghedira. 2012. Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles. In *Phytothérapie anti-infectieuse*: Springer, 193-208.

- Goffard M., Armand C. 2000. Huiles essentielles – Extraits naturels, Les activités de documentation de physique et chimie 24(2):211-215.
- Guignard, J.-L., Dupont, F. (2004). Botanique systématique moléculaire, 13ed MASSON, Belgique, p234-237.
- Guignard, J.-L. and P. Potier, 2000 : Biochimie végétale, 2éme Edition, ed. T. 2.Dunod.
- Guillot, J., and E. Dannaoui. 2016. La résistance aux antifongiques: importance en médecine humaine et vétérinaire. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.
- Haddouchi, F., T. M. Chaouche, Y. Zaouali, R. Ksouri, A. Attou, and A. Benmansour. 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food chemistry* 141 (1):253-258.
- Hazzit, M., A. Baaliouamer, A. Veríssimo, M. Faleiro, and M. G. Miguel. 2009. Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food chemistry* 116 (3):714-721.
- Hussain, A. I., F. Anwar, S. A. Chatha, S. Latif, S. T. Sherazi, A. Ahmad, J. Worthington, and S. D. Sarker. 2013. Chemical composition and bioactivity studies of the essential oils from two *Thymus* species from the Pakistani flora. *LWT-Food Science and Technology* 50 (1):185-192.
- Kabouche, A., Z. Kabouche, A. Ghannadi, and S. Sajjadi. 2007. Analysis of the essential oil of *Teucrium polium* ssp. *aurasiacum* from Algeria. *Journal of essential oil Research* 19 (1):44-46.
- Kabouche, Z., N. Boutaghane, S. Laggoune, A. Kabouche, Z. Ait-Kaki, and K. Benlabed. 2005. Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *International Journal of Aromatherapy* 15 (3):129-133.
- Kamatou, G., A. Viljoen, A. Figueiredo, P. Tilney, R. Van Zyl, J. Barroso, L. Pedro, and S. Van Vuuren. 2007. Trichomes, essential oil composition and biological activities of *Salvia albicaulis* Benth. and *S. dolomitica* Codd, two species from the Cape region of South Africa. *South African Journal of Botany* 73 (1):102-108.
- Kerbouche, L., M. Hazzit, M.-A. Ferhat, A. Baaliouamer, and M. G. Miguel. 2015. Biological activities of essential oils and ethanol extracts of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq, and *Origanum floribundum* Munby. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 18 (5):1197-1208.

Khenaka, K. 2011. Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine, Algérie. 69 p.

Kitazato, K., Y. Wang, and N. Kobayashi. 2007. Viral infectious disease and natural products with antiviral activity. *Drug Discov Ther* 1 (1):14-22.

Kunle, O., J. Okogun, E. Egamana, E. Emojevwe, and M. Shok. 2003. Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine* 10 (1):59-61.

Labrecque, J., C. Bodet, F. Chandad, and D. Grenier. 2006. Effects of a high-molecular-weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58 (2):439-443.

Lakhdar, L. 2015. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in vitro. Thèse de Doctorat, Université de Mohammed (V) de Rebat, Maroc, 183p.

Lograda, T., M. Ramdani, P. Chalard, G. Figueredo, and A. Deghar. 2014. Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from eastern Algeria. *American journal of advanced drug delivery* 2 (6):697-710.

Luttge .U .K ; luge. M. Bauer .G(2002). Substances naturelles : botanique .3ème Edition, Maloine SA.192 -196.

Maryem L. (2016).les infection nosocomial en réanimation pédiatrique .Thèse de doctorat en médecine .Université de Kaddy Ayyad .Faculté de médecine et de pharmacie .Marrakech .117P

Mebarki. N., Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application a la formation d'une forme médicamenteuse antibactérienne, Mémoire de magister, université Mohamed Bougera Boumerdes, 2010,185p.

Mekonnen, A., B. Yitayew, A. Tesema, and S. Taddese. 2016. In vitro antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *International journal of microbiology* 2016.

Meriem, B. Ourda, A. 2019. Prescription antibiotique et résistance bactérienne : perception des médecins hospitaliers du CHU de Bejaia, Thèse du diplôme de docteur en médecine, Université de Bejaia, Algérie. 113p.

Marija, M., Senzana, B., Dusica, J., Sonja, D. et Milica, L. (2008). Morphology, distribution, and histochemistry of trichomes of *Thymus Lykæ* DEGEN & JAV. (LAMIACEAE) Arch. Biol. Sci., Belgrade, 60 (4), 667-672.

Mohammadi, M. J., A. Valipour, G. Sarizadeh, H. A. Shahriyari, S. Geravandi, M. Momtazan, J. Bahmaei, N. Tahery, A. Afra, and B. Rastegarimehr. 2020. Epidemiology of nosocomial infection in Abadan, Southwest Iran. *Clinical Epidemiology and Global Health*.

Mohammedi, Z., and F. Atik. 2012. Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue «Nature & Technologie»*. n 6:34-39.

Monnet T. (2011) .Les infection nosocomiales : L'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause, Thèse de doctorat en Pharmacie, Grenoble : Université Joseph Fourier, 21p.

Othman, M. B., K. B. H. Salah-Fatnassi, S. Ncibi, A. Elaissi, and L. Zourgui. 2017. Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Teucrium polium* L. subsp. gabesianum (LH) from Tunisia. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 23 (3):723-729.

Ozenda, P. (1991 ,2004). Flore et végétation du Sahara. 3èmeEd.CNRSedition, Paris. P.399.

Ouhayoun, J. P. 2003. Penetrating the plaque biofilm: impact of essential oil mouthwash. *Journal of clinical periodontology* 30:10-12.

Pepin, M., P. Boireau, F. Boué, J. Castric, F. Cliquet, Y. Douzal, A. Jestin, F. Moutou, and S. Zientara. 2007. Emergence des maladies infectieuses animales et humaines. *Productions animales* 20 (3):199-206.

Perveen, S., and A. Al-Taweel. 2018. Introductory chapter: terpenes and terpenoids. *Terpenes and Terpenoids*:1-12.

Purnavab, S., S. Ketabchi, and V. Rowshan. 2015. Chemical composition and antibacterial activity of methanolic extract and essential oil of Iranian *Teucrium polium* against some of phyto-bacteria. *Natural Product Research* 29 (14):1376-1379.

Raei, F., N. Ashoori, F. Eftekhari, and M. Yousefzadi. 2014. Chemical composition and antibacterial activity of *Teucrium polium* essential oil against urinary isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of essential oil Research* 26 (1):65-69.

Rapinel, V., N. Rombaut, N. Rakotomanomana, A. Vallageas, G. Cravotto, and F. Chemat. 2017. An original approach for lipophilic natural products extraction: Use of liquefied n-butane as alternative solvent to n-hexane. *LWT-Food Science and Technology* 85:524-533.

Ruiz-Navajas, Y., M. Viuda-Martos, E. Sendra, J. Perez-Alvarez, and J. Fernández-López. 2012. Chemical characterization and antibacterial activity of *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oils, two *Thymus* endemic species from southeast of Spain. *Food Control* 27 (2):294-299.

Saleh, I., A. Abd-ElGawad, A. E.-N. El Gendy, A. Abd El Aty, T. Mohamed, H. Kassem, F. Aldosri, A. Elshamy, and M.-E. F. Hegazy. 2020. Phytotoxic and Antimicrobial Activities of *Teucrium polium* and *Thymus decussatus* Essential Oils Extracted Using Hydrodistillation and Microwave-Assisted Techniques. *Plants* 9 (6):716.

Sellam, K., M. Ramchoun, C. Alem, and L. El-Rhaffari. 2013. Biological investigations of antioxidant-antimicrobial properties and chemical composition of essential oil from *Lavandula multifida*. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science* 2 (3):211-216.

Sevindik, E., Z. T. Abacı, C. Yamaner, and M. Ayvaz. 2016. Determination of the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Teucrium polium* and *Achillea millefolium* grown under North Anatolian ecological conditions. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 30 (2):375-380.

Smahane, B., B. Mounyr, B. Faisl, M. Stephane, T. Sghir, and B. Dalila. 2016. Antimicrobial Activities of Essential Oil of Five Plant Species from Morocco Against Some Microbial Strains. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 8 (11):1901-1906.

Soylu, S., H. Yigitbas, E. Soyly, and Ş. Kurt. 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of applied microbiology* 103 (4):1021-1030.

Silvant, C. (2014). *L'aromathérapie la nature au service de l'humanité*, Ed. Publibook, Paris.

Spichiger, R.-E., Vincent, V.-S., Figeat M., et Jeanmonod D. (2004). Botanique systématique des plantes à fleurs « une approche polygénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3ème Ed. press polytechniques et universitaire romandes Lausanne, Suisse, p.328.

Veres, K. (2007). Variability and biologically active components of some *Lamiaceae* species. Ph.D. thesis, Départements of pharmacognosy, Univ. Szeged, Hungary, p.3.

Uribe, S., J. Ramirez, and A. Peña. 1985. Effects of beta-pinene on yeast membrane functions. *Journal of bacteriology* 161 (3):1195-1200.

Wainsten, J. P. 2009. Le Larousse Médical. Paris: Larousse.

Wiegand, I., K. Hilpert, and R. E. Hancock. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature protocols* 3 (2):163.

Worowounga, X., L.-Y. Ernest, N. Armel-Frédéric, B. P. Firmin, S. Marinette, S.-M. Jean-Laurent, and K. Boniface. 2019. Activité Antibactérienne de l'extrait méthanolique des écorces de *Manilkara Mabokeensis*. *International Journal of Innovation and Applied Studies* 25 (2):785.

Yann-Olivier. 2015. La complexité des simples- Caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phyto-thérapeutiques. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*, 1(2) :7 .2374-0639

Zahar, J.-R. 2012. Epidémiologie et conséquences des infections nosocomiales en réanimation: Impact et conséquences de la résistance bactérienne en réanimation, Thèse de doctorat, Université de Grenoble, France, 124p.

Zare, P., R. Mahmoudi, and A. Ehsani. 2011. Biochemical and antibacterial properties of essential oil from *Teucrium polium* using resazurin as the indicator of bacterial cell growth. *Pharm Sci* 17 (3):183-188.

Zhihui, y., J. Tang, T. Khare, and V. Kumar. 2020. The alarming antimicrobial resistance in ESKAPEE pathogens: Can essential oils come to the rescue? *Fitoterapia* 140:104433.

Zouari, N., N. Fakhfakh, S. Zouari, A. Bougatef, A. Karray, M. Neffati, and M. Ayadi. 2011. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and

antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut.(Lamiaceae). *Food and bioproducts processing* 89 (4):257-265.

Zuzarte, M., L. Vale-Silva, M. Gonçalves, C. Cavaleiro, S. Vaz, J. Canhoto, E. Pinto, and L. Salgueiro. 2012. Antifungal activity of phenolic-rich *Lavandula multifida* L. essential oil. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 31 (7):1359-1366.

Annexes

Annexes

Annexe 1. Les articles

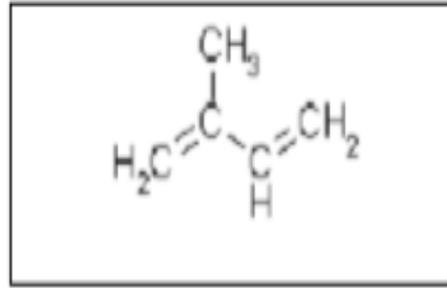
1. Abdelmounaim, K., M. Bendahou, F. Benbelaid, M. A. Abdoune, C. Bellahcene, F. Zenati, A. Muselli, J. Paolini, and J. Costa. 2016. Chemical Composition and Anti-MRSA Activity of Essential Oil and Ethanol Extract of *Lavandula multifida* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 19 (3):712-718.
2. Belmekki, N., N. Bendimerad, and C. Bekhechi. 2013. Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research* 7 (14):897-902.
3. Benbelaid, F., M. Bendahou, A. Khadir, M. Abdoune, C. Bellahcene, F. Zenati, W. Bouali, and D. Abdelouahid. 2012. Antimicrobial activity of essential Oil of *lavandula multifida* l. *J Microbiol Biotech Res* 2:244-247.
4. Benbelaid, F., A. Khadir, M. A. Abdoune, M. Bendahou, A. Muselli, and J. Costa. 2014. Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in both planktonic and biofilm state. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 4 (6):463-472.
5. Douhri, B., H. Douhri, A. Farah, M. Idaomar, N. S. Senhaji, and J. Abrini. 2014. Phytochemical analysis and antibacterial activity of essential oil of *Lavandula multifida* L. *Int J Innov Sci Res* 1:116-126.
6. Elmasri, W. A., M.-E. F. Hegazy, M. Aziz, E. Koksal, W. Amor, Y. Mechref, A. N. Hamood, D. B. Cordes, and P. W. Paré. 2014. Biofilm blocking sesquiterpenes from *Teucrium polium*. *Phytochemistry* 103:107-113.
7. Fertout-Mouri, N., A. Latrèche, Z. Mehdadi, F. Toumi-Bénali, and M. Khaled. 2017. Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie* 15 (6):346-353.
8. Kabouche, A., Z. Kabouche, A. Ghannadi, and S. Sajjadi. 2007. Analysis of the essential oil of *Teucrium polium* ssp. *aurasiacum* from Algeria. *Journal of essential oil Research* 19 (1):44-46.

-
9. Kabouche, Z., N. Boutaghane, S. Laggoune, A. Kabouche, Z. Ait-Kaki, and K. Benlabed. 2005. Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *International Journal of Aromatherapy* 15 (3):129-133.
10. Kerbouche, L., M. Hazzit, M.-A. Ferhat, A. Baaliouamer, and M. G. Miguel. 2015. Biological activities of essential oils and ethanol extracts of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq, and *Origanum floribundum* Munby. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 18 (5):1197-1208.
11. Lograda, T., M. Ramdani, P. Chalard, G. Figueredo, and A. Deghar. 2014. Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from eastern Algeria. *American journal of advanced drug delivery* 2 (6):697-710.
12. Othman, M. B., K. B. H. Salah-Fatnassi, S. Ncibi, A. Elaissi, and L. Zourgui. 2017. Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Teucrium polium* L. subsp. *gabesianum* (LH) from Tunisia. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 23 (3):723-729.
13. Purnavab, S., S. Ketabchi, and V. Rowshan. 2015. Chemical composition and antibacterial activity of methanolic extract and essential oil of Iranian *Teucrium polium* against some of phytobacteria. *Natural Product Research* 29 (14):1376-1379.
14. Raei, F., N. Ashoori, F. Eftekhar, and M. Yousefzadi. 2014. Chemical composition and antibacterial activity of *Teucrium polium* essential oil against urinary isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of essential oil Research* 26 (1):65-69.
15. Saleh, I., A. Abd-ElGawad, A. E.-N. El Gendy, A. Abd El Aty, T. Mohamed, H. Kassem, F. Aldosri, A. Elshamy, and M.-E. F. Hegazy. 2020. Phytotoxic and Antimicrobial Activities of *Teucrium polium* and *Thymus decussatus* Essential Oils Extracted Using Hydrodistillation and Microwave-Assisted Techniques. *Plants* 9 (6):716.
16. Sellam, K., M. Ramchoun, C. Alem, and L. El-Rhaffari. 2013. Biological investigations of antioxidant-antimicrobial properties and chemical composition of essential oil from *Lavandula multifida*. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science* 2 (3):211-216.
17. Sevindik, E., Z. T. Abacı, C. Yamaner, and M. Ayvaz. 2016. Determination of the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Teucrium polium* and *Achillea millefolium* grown under North Anatolian ecological conditions. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 30 (2):375-380.

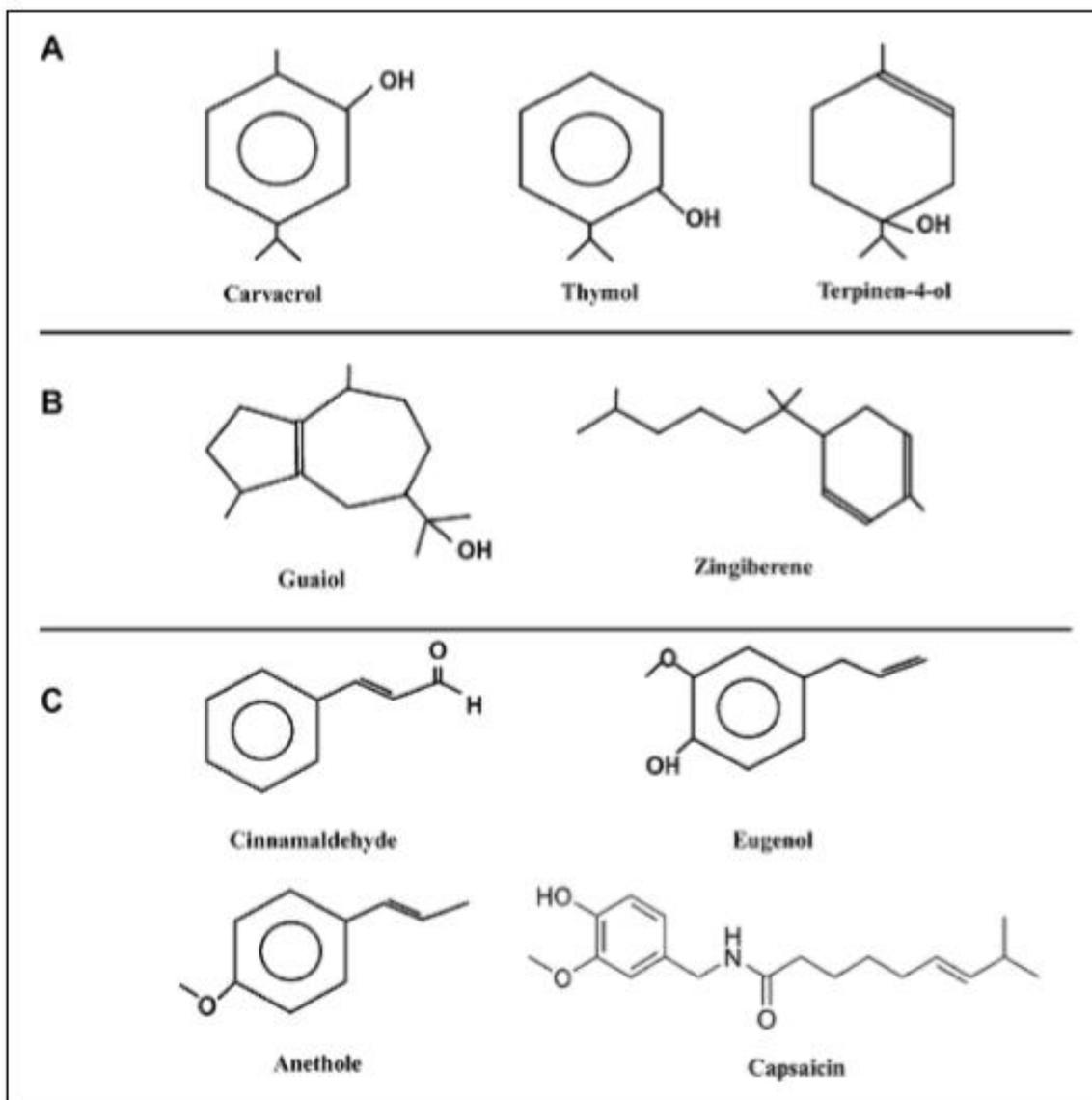
18. Smahane, B., B. Mounyr, B. Faisl, M. Stephane, T. Sghir, and B. Dalila. 2016. Antimicrobial Activities of Essential Oil of Five Plant Species from Morocco Against Some Microbial Strains. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 8 (11):1901-1906.

19. Zuzarte, M., L. Vale-Silva, M. Gonçalves, C. Cavaleiro, S. Vaz, J. Canhoto, E. Pinto, and L. Salgueiro. 2012. Antifungal activity of phenolic-rich *Lavandula multifida* L. essential oil. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 31 (7):1359-1366.

Annexe 2. Compositions des HEs



Structure de la molécule d'isoprène.

Structure de quelques composés des huiles essentielles (**A**) : monoterpénoïdes, (**B**) : sesquiterpénoïdes et (**C**) : phénylpropanoïdes (Khenaka, 2011).

Annexe 3. Les plantes étudiées

La famille des *Lamiaceae*

La famille des *Lamiaceae* connue également sous le nom des Labiées, Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles. (Bouhaddouda, 2016). La famille des *Lamiaceae* est l'une des premières familles à être distingués par les botanistes, les *lamiacées* sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiales. Cette famille comprend environ 260 genres et plus de 6500 espèces (Spichiger et *al.*, 2004). Ce sont des plantes à fleurs herbacées ou arborescentes très parfumées (Silvant C, 2014). 40% des espèces de la famille des *Lamiaceae* contiennent des composés qui possèdent des propriétés aromatiques (Verse k, 2007). En raison des huiles essentielles (HE) produits dans glandulaire, les poils sont répartis sur les organes aériennes de la végétation et de la reproduction (Marija et *al.*, 2008). Les *Lamiaceae* comprennent environ 3000 espèces dont l'aire de dispersion est extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranées : Thymus, lavandes, Romarins, qui caractérisent la flore des garrigues. Les *lamiacées* sont rares, par contre, dans les régions arctiques et en haute montagne (Guignard et *al.*, 2004).

1. *Teucrium polium*

Nom et position systématique

Règne	Plantae
Embranchement	Phanérogames
Sous Emb	Angiospermes
Class	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Teucrium
Espèce	<i>Teucrium polium</i>

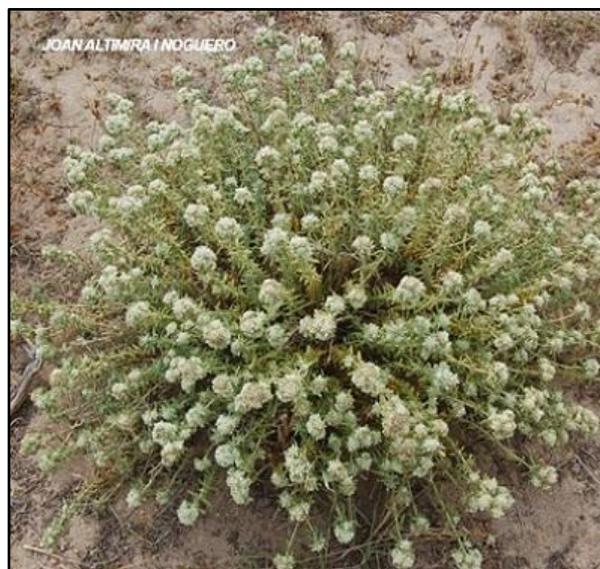
2. *Lavandula multifida*

Nom et position systématique

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous Emb	Angiospermes
Class	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Lavandula
Espèce	<i>Lavandula multifida</i>



Lavandula multifida



Teucrium polium

Annexe 4. Milieux de culture

Pour 1 litre de milieu

Gélose nutritif

Tryptone.....	5,0 g
Extrait de viande	3,0 g
Agar agar bactériologique.....	12,0 g

pH 7,0 ± 0,2.

Gélose Chapman

Peptone.....	11,0 g
Extrait de viande.....	1,0 g
Chlorure de sodium.....	75,0 g
Mannitol.....	10,0 g
Agar	15,0 g

Rouge de phénol

pH = 7,6.

Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de boeuf.....	300 ml
Peptone de caséine.....	17,5 g
Amidon de maïs.....	1,5 g
Agar.....	10,0 g

pH= 7,4.

Gélose Sabouraud

Peptone de viande	5 g
Peptone de caséine.....	5 g
Glucose	20 g
Agar.....	20 g

pH 6.

Gélose de MacConkey

Peptone pancréatique de gélatine	17 g
Tryptone.....	1,5 g
Peptone pepsique de viande	1,5 g
Lactose	10,0 g
Sels biliaires.....	1,5 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Rouge neutre	30,0 mg
Cristal violet	1,0 mg
Agar agar bactériologique.....	13,5 g
pH 7,1 ± 0,2.	

Gélose Hektoen

Protéose-peptone.....	12g
Extrait de levure.....	3g
Lactose.....	12g
Saccharose.....	12g
Salicine.....	2g
Citrate de fer III et d'ammonium.....	1,5g
Sels biliaires.....	0,9g
Fucshine acide.....	0,1g
Bleu de bromothymol.....	0,065g
Chlorure de sodium.....	5g
Thiosulfate de sodium.....	5g
Agar.....	14g
pH 7,6.	

Gélose Mossel

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	1g
Monnitol.....	10g

Jaune d'œuf.....	10g
Sulfate de polymyxine B.....	0,01g
Rouge de phénol.....	0.025g
Chlorure de sodium.....	10g
Agar.....	14g
pH 7,2.	

Gélose BCP

Peptone.....	5g
Extrait de viande.....	3g
Lactose.....	10g
Pourpre de bromocrésol.....	25g
Agar.....	15g
pH 6,8.	

المخلص

الزيوت الأساسية هي مكونات طبيعية تمتلك أنشطة ضد ميكروبية مهمة و تستطيع أن تعوض بنجاح المضادات الحيوية المستخدمة حاليا التي أثبتت عدم فعاليتها ضد البكتيريا المقاومة المسببة للأمراض المرتبطة بالعلاجات. الشيء الذي دفعنا إلى إجراء دراسة ضد ميكروبية لنبتتين محليتين (*Teucrium polium*, *Lavandula multifida*). تم الاستخلاص بواسطة التقطير المائي. تمت دراسة الأثر ضد الميكروبي عن طريق الانتشار على الوسط الصلب و اللوحة الحيوية في الوسط السائل. بينت نتائج تحليل المراجع أن الزيت الأساسي ل *Lavandula multifida* كان الأكثر نشاطا بمتوسط تثبيط 22.7 مم و متوسط حد أدنى من تركيز مثبط CMI 0.160%. في حين أن زيت *Teucrium polium* أظهر أنه أقل نشاطا.

الكلمات المفتاحية : الزيوت الأساسية، *Teucrium polium*, *Lavandula multifida*، أنشطة ضد ميكروبية، CMI.

Résumé

Les huiles essentielles sont des substances d'origine naturelle ayant une activité antimicrobienne intéressante pouvant ainsi remplacer les antibiotiques utilisées actuellement, surtout envers les microorganismes résistants responsables d'infections liées aux soins. C'est dans le même contexte, nous nous sommes intéressés dans cette étude à évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles obtenus par hydrodistillation à partir de plantes médicinales locales (*Teucrium polium*, *Lavandula multifida*). L'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées est mise en évidence par deux méthodes à savoir la diffusion sur milieu gélosé et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Les résultats d'analyse bibliographique montre que l'huile essentielle de *Lavandula multifida* est la plus active avec une moyenne des zones d'inhibition de 22.7 mm, des CMI de 0.160%. Alors que l'huile de *Teucrium polium* s'avérée moins efficace.

Mots clés : huiles essentielles, *Teucrium polium*, *Lavandula multifida*, Activité antibactérienne, CMI.

Abstract

Essential oils are substances of natural origin with interesting antimicrobial activity that can replace the antibiotics currently used, especially against resistant microorganisms responsible for infections related to care. In the same context, we were interested in this study to evaluate the antimicrobial activity of essential oils obtained by hydrodistillation from local medicinal plants (*Teucrium polium*, *Lavandula multifida*). The antimicrobial activity of those essential oils is studied by two methods, namely diffusion on agar medium and the determination of minimum inhibitory concentrations (MIC). The results of the literature review show that *Lavandula multifida* essential oil is the most active with an average zone of inhibition of 22.7 mm, MIC of 0.160%. While *Teucrium polium* essential oil was less effective.

Key words: Essential oils, *Teucrium polium*, *Lavandula multifida*, Antimicrobial activity, CMI.