



Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département des sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Référence / 2021

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :

MEDKOUR Fatih et ALLAOUA Abderrahim

Le: lundi 28 juin 2021

Évaluation de l'activité antimicrobienne et antibiofilm des plantes médicinales de la région de Biskra

Jury :

Dr.	TITAOUINE Mohamed	MCA	Université de Biskra	Président
Dr.	BENBELAID Fethi	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Dr.	GHITI Hassina	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020 – 2021

Remerciements

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

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements, à notre promoteur, **Dr. BENBELAID Fethi**, d'avoir accepté de nous encadrer, nous le remercions également pour sa patience, sa gentillesse et sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils durant tout au long de notre travail.

On remercie également les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nous tiendrons également à exprimer nos reconnaissances et notre 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.

Nous exprimons nos vifs remerciements à toute l'équipe du laboratoire d'hygiène, EPSP **teniet el abed** pour leur aide précieuse durant la réalisation de notre travail.

Nous remercions également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes très chers **Parents**

Qui ont toujours été là pour moi, m'ont donné un magnifique modèle de persévérance et qu'ils sont très fières de ce que je suis aujourd'hui.

À ma Femme Rafika qui m'encourage pendant ce cycle.

À mes très chères enfants : **Teqwa et Tamim**

À mon cher frère : **Mounir.**

À mes chères sœurs : **Fatiha, Mounira, soumya et ouassila**

À ma très chère grand-mère **hizia.**

À mon cher oncle : **Ammar** et sa famille.

À mes amis intimes : **Sami, khaled, Azi et yazid.**

À mes collègues du travail à l'EPH teniet el abed : **Noureddine, Samir, Yahia, Halim, Malik**

À mon cher binôme : **Abderrahim** de ces efforts énormes de réaliser ce travail, je le souhaite une bonne continuation et le succès dans sa vie.

À tous mes enseignants de master.

À tous mes collègues de promotion **2021.**

À toutes les personnes m'ayant consacré un moment pour m'aider et me conseiller.

Fatih

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes très chers **Parents**

Qui ont toujours été là pour moi, m'ont donné un magnifique modèle de persévérance et qu'ils sont très fières de ce que je suis aujourd'hui.

À mes chers frères : **Abdel wahab, Abdel baste** et sa familles (surtout **Tadj eddine**).

À grande famille : **Allaoua**.

À mes cousins : **Saif El islam, Noufel, Belkacem, Meftah...**

À mes amies (de biologie) : **Djafer, Hocine, Aymen, Omar, Abdel kader, Ziad, Meftah**.

À mes chers amis : **Saif el islam, Walid, Amir, Abdel Rahman, Salim, Ramzi, Mahdi, Mostapha**.

À mon cher binôme : **Fatih** de ces efforts énormes de réaliser ce travail, je le souhaite une bonne continuation et le succès dans sa vie.

À tous mes enseignants de la filière de biologie de l'université de Biskra.

À tous mes collègues de promotion **2021**.

À toutes les personnes m'ayant consacré un moment pour m'aider et me conseiller.

Abderrahim

Table des matières

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

Première partie : Partie bibliographique

Chapitre 1. Les Infections nosocomiales

1.1. Définition	2
1.2. Épidémiologie des infections nosocomiales	2
1.3. Les principaux sites des infections nosocomiales.....	2
1.3.1. Infections urinaires	2
1.3.2. Infections respiratoires	2
1.3.3. Infections du site opératoire (ISO).....	3
1.3.4. Bactériémie	3
1.4. Les Facteurs de risques	3
1.5. Mécanismes et mode de transmission.....	4
1.6. Principaux agents infectieux responsables d'infection nosocomiales	4

Chapitre 2. Les Biofilms

2.1. Généralités	6
2.2. Formation du Biofilm.....	6
2.2.1. Attachement réversible	7
2.2.2. Attachement irréversible	7
2.2.3. Formation de colonies et maturation.....	7

2.2.4. Détachement des bactéries	7
2.3. Facteurs influencant sur la formation du biofilm.....	8
2.4. Biofilm et les infections nosocomiales	8

Chapitre 3. Les Huiles essentielles

3.1. Définition	9
3.2. Répartition et Localisation.....	9
3.3. Composition chimique des huiles essentielles.....	9
3.4. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	10
3.5. Mode d'action antimicrobien des huiles essentielles.....	10
3.6. Activité antibiofilm.....	10
3.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	11

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 4. Matériel et méthodes

4.1. Huiles essentielles.....	12
4.1.1. Matériel végétal	12
4.1.2. Extraction des huiles essentielles.....	12
4.1.3. Conservation des huiles essentielles	13
4.2. Souches microbiennes étudiées	13
4.2.1. Souches d'origine clinique.....	14
4.2.2. Souches de référence	14
4.3. Activité antimicrobienne des Huiles essentielles.....	14
4.3.1. Méthode de diffusion sur gélose « Aromatogramme ».....	15
4.3.2. Détermination des CMI de la formation de biofilms (CMIB)	16
4.3.3. Détermination de CMB et CMF en milieu solide.....	18
4.3.4. Détermination des CMI de la formation de biofilm (CMIB).....	18

Chapitre 5. Résultats et discussion

5. Activité antimicrobienne des huiles essentielles	20
5.1. Résultats d'aromatogramme	20
5.2. CMI de la croissance microbienne.....	22
5.3. Détermination des CMB et CMF en milieu solide	24
5.4. CMI de la formation du biofilm.....	26
Conclusion	29
Références Bibliographiques	
Résumés	
Annexes	

Liste des Tableaux

Tableau 01. Les facteurs de risques et les agents causales des principales infections nosocomiales.	3
Tableau 02. Principaux microorganismes responsables des infections contractées à l'hôpital. 5	
Tableau 03. Les espèces végétales étudiées.	12
Tableau 04. Liste des souches microbiennes testées.	13
Tableau 05. Résultats de l'Armatograme.	20
Tableau 06. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la croissance.	22
Tableau 07. Concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF).	24
Tableau 08. Concentrations minimales inhibitrices (CMIB) de la formation du biofilm.	26

Liste des Figures

Figure 01. Les étapes de formation du biofilm.	6
Figure 02. Schéma du montage d'hydrodistillation	13
Figure 03. Protocol d'aromatogramme.	16
Figure 04. Préparation des dilutions des HEs.....	17
Figure 05. Préparation de la microplaque.....	18
Figure 06. Schéma de microplaque pour lecture des résultats de CMIB.	19
Figure 07. Diamètre des zones d'inhibition pour HEs étudiées vis-à-vis l'espèce <i>S. aureus</i> clinique.....	21
Figure 08. Résultats des activités antibiofilm de l'HE de <i>Salvia spp.</i> vis-à-vis <i>S.aureus</i>	27

Liste des abréviations

ATCC	: American Type Culture Collection
BAS	: Bactériémie associée aux soins
BHIB	: Brain Heart Infusion Broth (Bouillon cœur-cervelle)
BMR	: Bactéries multi résistantes
BN	: Bouillon nutritif
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CMB	: Concentration minimale bactéricide
CMF	: Concentration minimale fongicide
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
CMIB	: Concentration minimale inhibitrice du biofilm
EPS	: Substances polymères extracellulaires
GN	: Gélose nutritif
HE	: Huile essentielle
IN	: Infection nosocomiale
ISO	: Infections du site opératoire
MH	: Müller-Hinton
OMS	: Organisation mondiale de la santé
PN	: Pneumopathie nosocomiale
SARM	: <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
UFC	: Unité formant colonie

Introduction

Les infections nosocomiales (IN) connues aussi sous le nom des infections liées aux soins sont des complications infectieuses apparaissent au cours ou à la suite d'un séjour d'au moins 48 heures après l'admission du patient à l'hôpital. Les IN consistent actuellement un véritable problème de santé publique à cause de l'augmentation alarmante des taux de morbidité et de mortalité dans les établissements de santé. Ce problème est également lié à des surcoûts financiers dû à la durée de l'hospitalisation et des traitements aux antibiotiques. (Kaoutar *et al.*, 2004)

Actuellement, l'incidence des infections liées aux soins est en constante augmentation à travers le monde touchant aussi bien les pays développés que ceux en voie de développement. En 2008, une enquête de prévalence réalisée par l'OMS a montré qu'une moyenne de 8,7% des patients hospitalisés sont affectés par des IN avec un nombre de 1.4 millions personnes souffrent de complications liées à ces infections. (WHO, 2008).

Un grand nombre d'agents infectieux (bactéries, virus, levures, parasites) peuvent être responsables d'IN. Néanmoins, certains d'entre eux sont plus fréquemment impliqués. Parmi les microorganismes incriminés dans les infections liées aux soins, les bactéries multi-résistances (BMR) aux états planctonique et biofilm représente la forme la plus difficile à éradiquer à cause de leur tolérance vis-à-vis des doses élevées d'antibiotique et des antiseptiques. (Pozzetto, 2009 ; Lebeaux et Ghigo, 2012)

Ces dernières années, plusieurs études ont été effectuées dans le but de la mise en évidence de nouvelles molécules antimicrobiennes. Parmi les sources de substances avec une activité antimicrobienne efficaces, les plantes représentent un trésor dans ce but grâce à leur histoire thérapeutique, ainsi que leur utilisation dans la prévention et traitement des maladies infectieuses. Les recherches actuelles ont démontré, sans doute, que les métabolites secondaires des plantes, dont les huiles essentielles (HEs), sont dotés d'une forte activité antimicrobienne. Par conséquent, ces produits naturels peuvent être employés comme une bonne alternative face aux problèmes d'infections liées aux soins grâce à leur profil antimicrobien et antibiofilm. (Aouni *et al.*, 2013)

Dans le cadre de la recherche des nouvelles molécules ayant un effet inhibiteur envers les microorganismes pathogènes, nous nous sommes intéressés d'évaluer l'activité antimicrobienne et antibiofilm des HEs obtenues de trois plantes aromatiques locales (*Teucrium polium*, *Salvia spp.*, *Micromeria debilis*) vis-à-vis dix souches microbiennes (bactéries et levures) incriminées dans les infections liées aux soins.

Partie

Bibliographique

Chapitre 1.

Les infections nosocomiales

1.1. Définition

Les infections nosocomiales (IN) sont définies comme des infections contractées 48 heures après l'hospitalisation et n'étaient pas présents ou en incubation avant l'admission du patient à l'hôpital. Les infections nosocomiales peuvent être d'origine bactérienne, fongique, parasitaire ou virale (Delmont *et al.*, 2012; Llanos-Torres, 2021).

1.2. Épidémiologie des infections nosocomiales

Actuellement, les infections nosocomiales affectent un grand nombre de patients à travers le monde augmentant considérablement le taux de morbidité et de mortalité ainsi que les charges financières (Khan *et al.*, 2017). En effet, plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent de complications infectieuses liées aux soins selon les estimations rapportées par l'OMS. Les fréquences les plus élevées sont enregistrées dans les hôpitaux de la Méditerranée orientale et d'Asie du Sud-Est à savoir 11,8% et 10,0%, respectivement. Tandis que le taux de prévalence en Europe atteint 7,7% et 9% dans le Pacifique occidental (WHO, 2008).

1.3. Les principaux sites des infections nosocomiales

Les cinq principaux sites des infections liées aux soins représentant 70% de l'ensemble des infections nosocomiales classées par ordre d'importance sont les infections urinaires (35%), les infections respiratoires basses (12%), les infections du site opératoire (11%), les bactériémies (6%) et les infections par cathéter (4%) (Said, 2005).

1.3.1. Infections urinaires

Les infections urinaires liées aux soins constituent un véritable problème de santé publique à cause de la surmortalité et le surcoût qu'elle entraîne (Elfane *et al.*, 2016). Les populations en risque élevé représentant par les patientes porteuses de sondes urinaires, ou ayant un séjour de longue durée ainsi que les patients âgés atteints de maladies débilitantes. Les microorganismes responsables de ces complications proviennent généralement de la flore intestinale du patient (Lazrak *et al.*, 2014).

1.3.2. Infections respiratoires

Les infections respiratoires nosocomiales ou la Pneumopathie nosocomiale (PN) sont considérées comme les infections liées aux soins les plus fréquentes après les infections urinaires. Son incidence est particulièrement élevée dans les unités des soins intensifs (USI) par rapport aux autres services hospitaliers. Les pneumopathies nosocomiales acquises sous ventilation mécanique représentent la forme la plus fréquente et la plus sévère malgré les

progrès de l'antibiothérapie et la mise en œuvre de mesures de prévention (Sainte-Marie *et al.*, 2016; Younoussa, 2020).

1.3.3. Infections du site opératoire (ISO)

Les infections du site opératoire sont des infections nosocomiales survenant après la chirurgie. Les principaux facteurs de risque sont l'environnement pré-, per- et post-opératoire entourant le patient dont l'équipe de soins en question, le matériel utilisés et en particulier le degré d'hygiène pendant l'acte chirurgical. Parmi les bactéries les plus identifiées dans les sites opératoires, l'espèce *Staphylococcus aureus* entraînant une hospitalisation prolongée et un risque de mortalité très élevé (Fournel, 2017; Khan *et al.*, 2017).

1.3.4. Bactériémie

Une bactériémie associée aux soins (BAS) est définie par une infection survenant après un délai de séjour de deux jours dans le service avec au moins une hémoculture positive (justifiée par des signes cliniques), sauf pour certains germes où deux hémocultures positives sont exigées pour confirmer l'infection de la circulation sanguine (El Kettani *et al.*, 2017).

1.4. Les Facteurs de risques

En cas d'un séjour dans l'hôpital, plusieurs facteurs augmentent les risques de l'apparition et la propagation des infections liées aux soins (**Tab.01**).

Tableau 01. Les facteurs de risques et les agents causales des principales infections nosocomiales. (Said, 2005)

Site	Facteurs de risques	Agentes responsables
Infections urinaires	<u>Les facteurs extrinsèques :</u>	
	Sondage urinaire (80 % des cas des infections urinaires)	<i>Escherichia coli</i> résistant aux aminopénicillines
	<u>Les facteurs intrinsèques :</u>	Entérocoques
	Le sexe féminin avec un risque multiplié par deux	<i>Pseudomonas spp.</i>
	L'âge (>50 ans)	<i>Klebsiella spp.</i>
	Le diabète	<i>Enterobacter spp.</i>
	L'antibiothérapie	<i>Serratia spp.</i>
	Certaines conditions sous-jacentes (traumatisme de la moelle, vidange vésicale , sondage vésical...)	<i>Candida spp.</i>
Pneumopathie	Orthèse endotrachéale	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	L'âge (>50 ans)	(30 % des pneumopathies nosocomiales)
	L'insuffisance respiratoire chronique	

	La durée de la ventilation	<i>Klebsiella, Escherichia, Serratia</i> (8 % des cas)
Infections des sites opératoires	L'âge extrême : provoque de déséquilibre cardio-pulmonaire, hépatique et rénal.	Les espèces y responsables dépendent de plusieurs facteurs dont le type de chirurgie, le site opératoire, l'antibioprophylaxie. L'infection est très souvent poly microbienne.
	L'état nutritionnel : la malnutrition entraîne une diminution de la synthèse des immunoglobulines.	
	Les maladies sous-jacentes : Le diabète, les tumeurs, l'immunodépression, l'anémie, l'hypertension artérielle.	
	L'hospitalisation : La prolongation de la durée d'hospitalisation préopératoire.	
	Autres facteurs : L'hygiène, les pratiques de l'équipe médico-chirurgicale, l'usage abusif des antibiotiques, La mauvaise architecture du bloc.	

1.5. Mécanismes et mode de transmission

Les infections nosocomiales se transmettent vers les patients via plusieurs mécanismes dont (Qassimi, 2010) :

- ❖ **L'auto-infection** : Le patient s'infecte par sa flore endogène ou bien des microorganismes qui a remanié. Les malades auto-infectés constituent une source importante de germes et sont souvent à l'origine d'hétéro-infection.
- ❖ **L'hétéro-infection** : C'est la conséquence de l'infection d'un malade par les germes d'un autre malade.
- ❖ **L'xéno-infection** : est due à l'entrer dans la communauté hospitalière des nouveaux malades, plus rarement de personnel ou des visiteurs porteurs d'une maladie infectieuse.
- ❖ **L'exo-infection** : est liée à des erreurs d'hygiène et à des insuffisances dans les techniques d'asepsie.

1.6. Principaux agents infectieux responsables d'infection nosocomiales

Des agents pathogènes très divers peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales (Tab.02). Les agents infectieux varient selon les populations de patients et les types d'établissements de santé, d'un établissement à l'autre et d'un pays à l'autre (WHO, 2008).

Tableau 02. Principaux microorganismes responsables des infections contractées à l'hôpital.
(Parker, 1979)

Microorganismes	Espèces	Pouvoir pathogène	
Cocci Gram-positifs	<i>Staphylococcus aureus</i>	P	(C)
	Autres staphylocoques et microcoques		C
	Streptocoques du groupe A	P	
	Streptocoques du groupe B		C
	Streptocoques des groupes C et G	P	(C)
	Entérocoques		C
	Autres streptocoques non hémolytiques		C
	Cocci anaérobies		C
Bacilles anaérobies	Clostridies histotoxiques		C
	<i>Clostridium tetani</i>		C
	Bacilles Gram-négatif non sporulant		C
Bacilles aérobies Gram-négatifs	Entérobactéries : Salmonella, Shigella, <i>Escherichia coli</i> entéro-pathogènes,	P	
	Autres <i>Escherichia coli</i> , Proteus, Klebsiella-Serratia-Enterobacter		C
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , autres <i>Pseudomonas</i>		C
	Autres bactéries		
Autres bactéries	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>		C
	Acinetobacter		C
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	P	
	Listeria		C (O)
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	P	
Virus	Hépatite	P	
	Variolle	P	
	Varicelle	P	
	Grippe et autres virus respiratoires	P	
	Herpes	P	(C) (O)
	Cytomégalovirus	P	(C) (O)
	Rougeole	P	
	Rubéole	P	
	Rotavirus	P	
Champignons	<i>Candida</i>		C (O)
	<i>Nocardia</i>		O
	Moisissures		C

P = Pathogènes « banals » : provoquent des maladies cliniques chez des sujets en bonne santé. C = Pathogènes « conditionnels » : ne provoquent de maladies sérieuses qu'en présence d'un facteur prédisposant spécifique. O = Pathogènes « opportunistes » : provoquent des maladies généralisées, mais seulement chez des patients dont la résistance à l'infection est fortement diminuée. (C) = Probabilité d'infection ou gravité fortement augmentée chez les sujets prédisposés. (O) = Provoque rarement une infection généralisée excepte chez des patients dont la résistance est fortement diminuée.

Chapitre 2.

Les Biofilms

2.1. Généralités

Le biofilm est une colonie de microorganismes regroupée, protégée ainsi adhérente sur une surface biotique ou abiotique grâce à une matrice extracellulaire produite par les cellules elles-mêmes. Il s'agit en effet d'un modèle qui s'adapte aux variations de son environnement. Un biofilm peut être formé par une seule ou plusieurs espèces mais dans un environnement naturel souvent les biofilms sont formés par une diverse espèces bactériennes, de moisissures, d'algues ou des protozoaires qui peuvent former une seule couche ou des structures tridimensionnelles (Roux et Ghigo, 2006; Lamia, 2013; Albrecht, 2015).

2.2. Formation de Biofilm

Les bactéries peuvent exister dans l'environnement sous deux formes possibles ; soit en mode planctonique/isolé, ou bien sous forme de biofilms. Toutefois, le passage d'un mode à un autre est un choix pour les bactéries, surtout s'il y'a présence d'un support solide pour y fixer ou en cas de changement de l'environnement. Une agglutination des cellules microbiennes est à l'origine de la formation des biofilms, puis le détachement de certaines parties du biofilm peuvent former de nouvelles communautés fixées.

Le développement du biofilm se fait en quatre étapes : Attachement réversible, Attachement irréversible, formation de colonies et maturation, détachement des bactéries (**Fig 01**)(Albrecht, 2015).

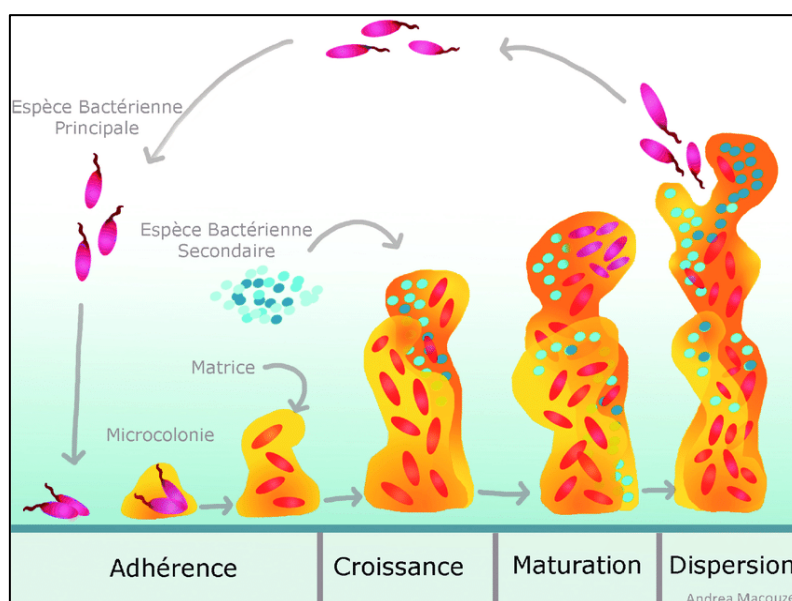


Figure 01. Les étapes de formation du biofilm.(Tremblay *et al.*, 2014)

2.2.1. Attachement réversible

L'adhésion peut être effectuée sur n'importe quelle surface biotique et abiotique. Cependant, les surfaces hydrophobes favorisent mieux l'adhésion des cellules car celles-ci ayant un certain degré d'hydrophobicité. Des changements physiologiques près de la surface peuvent la rendre décantable ce qui attire les bactéries pour se regrouper et former le biofilm notamment : pH, changements de pression osmotique, présence de charges électrique sur la surface Néanmoins à ce stade, l'adhésion reste instable du coup elle est réversible (Saur, 2014).

2.2.2. Attachement irréversible

L'adhésion irréversible des cellules dites pionnières est effectuée le plus souvent grâce à deux mécanismes à savoir la formation des liaisons faibles entre la surface des cellules et le support (parfois avec des molécules fixées au préalable) de type liaisons de van der Waals, liaisons hydrogènes, liaisons hydrophobes, dont le nombre compense le niveau d'énergie. Tandis le deuxième mécanisme fait appel à des ponts d'agrégats entre les différents appendices (flagelles et pili) et la surface. Par conséquent, les micro-organismes peuvent se fixer de manière stable sur le support (Saur, 2014).

2.2.3. Formation de colonies et maturation

Après adhérence, les cellules pionnières tendent dans un premier temps à se multiplier avec la sécrétion des molécules de la matrice extracellulaire permettant ainsi la formation de la base du biofilm. Ensuite, d'autres cellules microbiennes de différentes espèces viennent à s'adhérer sur les cellules pionnières via des interactions spécifiques de type récepteur/ligand ou bien non spécifiques. À ce stade, le développement du biofilm peut être effectué en deux étapes, à savoir la formation et la maturation des micro-colonies. La première étape consiste à la multiplication des cellules ainsi croissance de la colonie microbienne tout en sécrétant la matrice extracellulaire (EPS). Ces structures vont s'étendre et former un biofilm complexe avec diverses morphologies et propriétés microbiennes. C'est l'étape de la maturation à travers laquelle le biofilm mature constitue un système toujours dynamique, avec un certain degré de stabilité macroscopique (Saur, 2014).

2.2.4. Détachement des bactéries

Le détachement des cellules du biofilm permet la propagation et la colonisation d'autres parties de l'environnement. Celui-ci pourrait être déclenché par des signaux cellulaires en réponse à une surpopulation ou bien due au manque de nutriments (Albrecht, 2015).

2.3. Facteurs influencés sur la formation du biofilm

La formation du biofilm par des micro-organismes sur une surface est un processus complexe, prenant en compte un grand nombre de facteurs endogène et exogène, parmi lesquelles on peut citer (De Rochemonteix, 2009) :

- **Propriétés de la surface :** (Texture, rugosité, présence d'aspérités, hydrophobicité, présence préalable d'un film protéique recouvrant la surface).
- **Propriétés du milieu aqueux environnant :** (vitesse du flux, présence d'un flux laminaire ou non, pH, température, Cations Ca^{+2} , Na^{+2} , Fe^{+3} , sources de carbone disponibles, disponibilité du milieu en oxygène).
- **Propriétés des cellules :** (hydrophobicité de la surface des cellules, présence de fimbriae, Présence de flagelles, Rôle des structures polymériques extracellulaires d'exo polysaccharides.

2.4. Biofilm et les infections nosocomiales

Dans le milieu hospitalier, le biofilm peut être l'origine des maladies infectieuses liée aux soins car ces communautés peuvent se développer sur les équipements médicaux ainsi que tout l'environnement entourant les patients (Saur, 2014).

Chapitre 3.

Les Huiles essentielles

3.1. Définition

Une huile essentielle (HE) selon la pharmacopée européenne est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. Elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche. Les HEs sont des liquides huileux volatiles, aromatiques, concentrés et hydrophobes qui proviennent de diverses parties des plantes (Bouزيد, 2018; Mayer, 2012).

3.2. Répartition et Localisation

Les HEs sont ubiquitaires dans tout le règne végétal. Cependant, ces substance volatiles sont particulièrement abondantes chez certaines familles dont les Rutacées, Ombellifères, Myrtacées, Lamiacées (Thym, Sauge, Lavande), Poacées, Conifères, Agrumes...(Marouf et Tremblin, 2015).

Les HEs peuvent êtres synthétisés ainsi stockées dans tous les organes végétaux à savoir les fleurs (Rose, Lavande, les boutons floraux du girofle), les feuilles (Eucalyptus, Menthe, Thym, Laurier, Sarriette, Sauge, Pin et Sapin), les racines (Vétiver, Carotte, Zingiber), rhizomes les fruits (Orange, Citron, Badiane), le bois et les écorces (Cannelle, Santal, bois de rose) et les graines (noix de Muscade, Coriandre) (Lamamra, 2018).

3.3. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des HEs est complexe et varier sous l'influence de plusieurs facteurs dont l'espèce botanique en question, les organes, les facteurs environnementaux, le mode d'extraction. Les HEs sont des mélanges de constituants appartenant à trois catégories : terpéniques, composés aromatiques et variés (Naouel, 2015).

- **Terpènes** : sont des molécules formées par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques. Les HEs sont particulièrement constituées de monoterpènes et des sesquiterpènes, mais rarement de diterpènes.
- **Composés aromatiques** : ou bien les phénylpropanoïdes dérivent du phénylpropane. Ces molécules sont moins fréquentes dans les HEs que les terpènes. Il comprend plusieurs composés odorants comme : l'estragol, l'anéthol, la vanille...
- **Composés d'origine variée** : sont des hydrocarbures aliphatiques à chaine linéaire ou ramifié porteurs de différentes fonctions.

3.4. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

À travers plusieurs études publiées en ligne, les auteurs ont prouvé que certaines HEs sont dotés de nombreuses activités biologiques telles que les activités antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, antibiofilm, anti-cancéreuse, insecticide, ainsi que d'autres. Le spectre d'action antimicrobienne des HEs s'est avérés très étendu, car il est constaté que les huiles il agissants sur nombreuses espèces bactériennes, y compris celles ayant développé des mécanismes de résistance aux antibiotiques. De plus, les HEs possèdent des effets toxiques envers d'autres microorganismes dont les champignons, les virus et les parasites pathogènes (Naouel, 2015 ; Bouchekrit, 2018).

3.5. Mode d'action antimicrobien des huiles essentielles

En effet, les HEs sont constituées de plusieurs molécules ayant des fonctions différentes dont les phénols, les aldéhydes les cétones et les alcools. Il est désormais constaté que l'activité antimicrobienne des HEs est fortement liée à ces composés oxygénés. L'action de l'essence se déroule en trois étapes distinctes (Naouel, 2015) :

- ❖ **Altération de la membrane plasmique** ce qui induit une à augmentation de la perméabilité suivie par le perte des constitués cellulaire.
- ❖ **Acidification de l'intérieur de la cellule** ce qui engendre le blocage de la synthèse des molécules de structure et la production de l'énergie.
- ❖ **Destruction du matériel génétique** induisant la mort de la cellule.

3.6. Activité antibiofilm

Le biofilm microbien présente l'état le plus difficile à éradiquer en utilisant les agents antimicrobien standards. Par contre, à travers des recherches effectuées, les huiles essentielles à très faibles concentration sont capables d'inhibées la formation de biofilm par plusieurs mécanismes (Niu et Gilbert, 2004). Notamment, l'activation des gènes de réponse contre stress qui causer la diminution des polysaccharides extracellulaires, ou par l'interaction des HEs avec protéines des surfaces microbienne qui inhibe leur fixation (Benbelaid, 2015). En plus, des études montrent que l'activité anti-biofilm des huiles essentielles dépend de plusieurs facteurs parmi lesquels : la nature et la concentration des huiles essentielles utilisées, la souche traitée, l'âge du biofilm (Barchan *et al.*, 2014).

3.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les HEs sont actuellement utilisées pour différents applications industrielles et pharmaceutiques car ces substances d'origine végétale possèdent plusieurs propriétés médicinales. En parfumerie et cosmétique, les HEs sont largement utilisées dans ces industries non seulement pour aromatisés leurs produits mais également pour leur préservation durant le stockage grâce aux activités antiseptiques et antioxydante des HEs. Également, les HEs sont employées en industrie agro-alimentaire pour les mêmes propriétés (Naouel, 2015; Bouchekrit, 2018).

Partie Expérimentale

Chapitre 4.

Matériel et Méthodes

4.1. Huiles essentielles

4.1.1. Matériel végétal

Les plantes médicinales étudiées dans ce travail ont été récoltées à partir de différentes régions (**Tab 03**). Les parties aériennes de la plante (tiges, feuilles et fleurs) ont été récoltées en pleine inflorescence entre Janvier 2020 et Mai 2021. Au laboratoire, les extractions ont été effectuées le jour même en utilisant le matériel végétale frais.

Tableau 03. Les espèces végétales étudiées.

Espèce	Nom commun	Lieu de récolte	Date de récolte
<i>Teucrium polium</i> L. (<i>T. polium</i>)	الجعاد, تيمزورين	EL-Hadjeb	Février 2020
<i>Micromeria debilis</i> Pomel (<i>M. debilis</i>)	نابطة	Loutaya	Mars 2020
<i>Salvia spp.</i>	الميرمية	Tlemcen	Avril 2021

4.1.2. Extraction des huiles essentielles

Les HEs étudiées ont été obtenues par monsieur FERHAT Abdelfattah durant l'année universitaire 2019/2020 dans laboratoire pédagogique du département de SNV, université Mohamed Khider de Biskra. Les extractions ont été effectuées en utilisant la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un montage de types Clevenger (**Fig 02**). Cette procédure consiste à immerger le matériel végétal frais dans un bain d'eau puis l'ensemble est porté à ébullition. Les vapeurs chargées des HEs sont acheminées vers un condenseur. Les gouttelettes recueillies sont ensuite récupérées dans une burette graduée dans laquelle l'HE se sépare de l'hydrolat (eau aromatique) par sa différence de densité. La durée totale de l'extraction est estimée à 3 h jusqu'à ce qu'on obtienne un volume constant de l'HE (Bousbia, 2011; Boukhatem *et al.*, 2019).

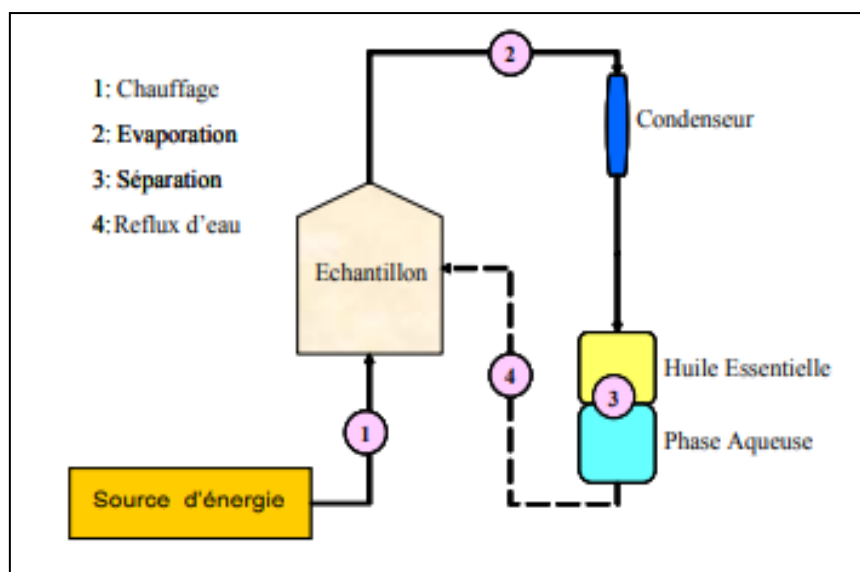


Figure 02. Schéma du montage d'hydrodistillation.(Bousbia, 2011)

4.1.3. Conservation des huiles essentielles

Après récupération de la totalité de la phase huileuse flottante, l'extrait obtenu est séché via le sulfate de magnésium ($MgSO_4$), puis conservé dans des flacons fumés dans un endroit frais ($4^{\circ}C$) (Benbelaid, 2015).

4.2. Souches microbiennes étudiées

Dix souches microbiennes ont été sélectionnées pour ce travail. Il s'agit de huit souches bactériennes (4 espèces à Gram positif et 4 espèces à Gram négatif) ainsi que deux champignons (Tab 04).

Tableau 04. Liste de souches microbiennes testées.

Souche		
Bactéries Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> SARM) ATCC 43300	(<i>S. aureus</i>)
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	(<i>B. subtilis</i>)
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	(<i>E. faecalis</i>)
	<i>Staphylococcus aureus</i> *	(<i>S. aureus</i> *)
Bactéries Gram (-)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 27325	(<i>E. coli</i>)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	(<i>P. aeruginosa</i>)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	(<i>K. pneumoniae</i>)
	<i>Escherichia coli</i> *	(<i>E. coli</i> *)
Champignon	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	(<i>C. albicans</i>)
	<i>Candida kefyr</i> ATCC 8553	(<i>C. kefyr</i>)

* : souche clinique. SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

4.2.1. Souches d'origines cliniques

Les souches cliniques (*S. aureus* et *E. coli*) ont été obtenues auprès de laboratoire de microbiologie du centre hospitalier universitaire de Batna.

4.2.2. Souches de référence

Les souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) ont été obtenues à partir de laboratoire LAMAABE, université de Tlemcen.

➤ Revivification

La revivification des souches a été effectuée par ensemencement dans 5 ml de bouillon nutritif (BN) à l'aide d'une anse de platine. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24h.

➤ Purification

Cette étape est effectuée pour assurer la pureté des souches étudiées. Elle consiste à ensemencer la souche revivifiée précédemment par la méthode d'épuisement. Pour ce faire, une boîte de pétri remplie par gélose nutritif (GN) est utilisée pour l'ensemencement dans le but de réduire la charge cellulaire et d'obtenir des colonies bien isolées après l'incubation à 37°C pendant 24h.

➤ Conservation

La conservation courte durée des souches a été utilisée pour garder les souches étudiées. Une colonie bien isolée est inoculée sur une gélose inclinée (GN) par stries en utilisant l'anse de platine. Les tubes sont ensuite incubés pendant 24h à 37°C puis conservés à 4°C pendant 03 mois au maximum.

4.3. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

L'activité antimicrobienne des HEs étudiées a été évaluée par trois méthodes à savoir :

- ❖ La méthode de diffusion sur disque « Aromatogramme ».
- ❖ La méthode de microdilution en milieu liquide pour déterminer la concentration minimale inhibitrice, de la croissance « CMI » et de la formation de Biofilm « CMIB ».
- ❖ La méthode pour déterminer de la concentration minimal, bactéricide (CMB) et fongicide (CMF).

4.3.1. Méthode de diffusion sur disques « Aromatogramme »

L'aromatogramme est une méthode préliminaire utilisée *in vitro* pour évaluer l'activité antimicrobienne des HEs. En effet, cette étape est l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par les HEs (Kaloustian *et al.*, 2008).

➤ Préparation d'inoculum

La préparation de suspension microbienne standardisée à 10^8 UFC/ml a été réalisée selon les recommandations de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Une colonie préalablement purifiée de chaque souche étudiée est ensemencée puis incubée dans 5 mL de BHIB pendant 18 h à 37°C. Après incubation, les suspensions sont ajustées pour obtenir une turbidité standard de 0.5 McFarland ce qui correspond à une densité optique comprise entre [0.08-0.13] à une longueur d'onde de 625 nm (CLSI, 2012).

➤ Protocol

Le Protocol utilisé est inspiré de la méthode de Hayes et Markovic (2002). Des boîtes de gélose Müller-Hinton (MH) sont ensemencées par écouvillonnage avec l'inoculum 10^8 UFC/ml dans le but d'obtenir un tapis bactérien uniforme. Puis, des disques en papier filtre (6 mm de diamètre) préalablement imprégnés de 5 μ l de l'HE sont déposés à la surface de la gélose préensemencée. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h (**Fig 3**).

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (\emptyset) de la zone d'inhibition (en mm) exprimée en plusieurs niveaux d'activité (Djenane *et al.*, 2011):

Non sensible : ($\emptyset < 8$ mm)

sensible : ($9 < \emptyset < 14$ mm)

Très sensible : ($15 < \emptyset < 19$ mm)

extrêmement sensible : $\emptyset > 20$ mm

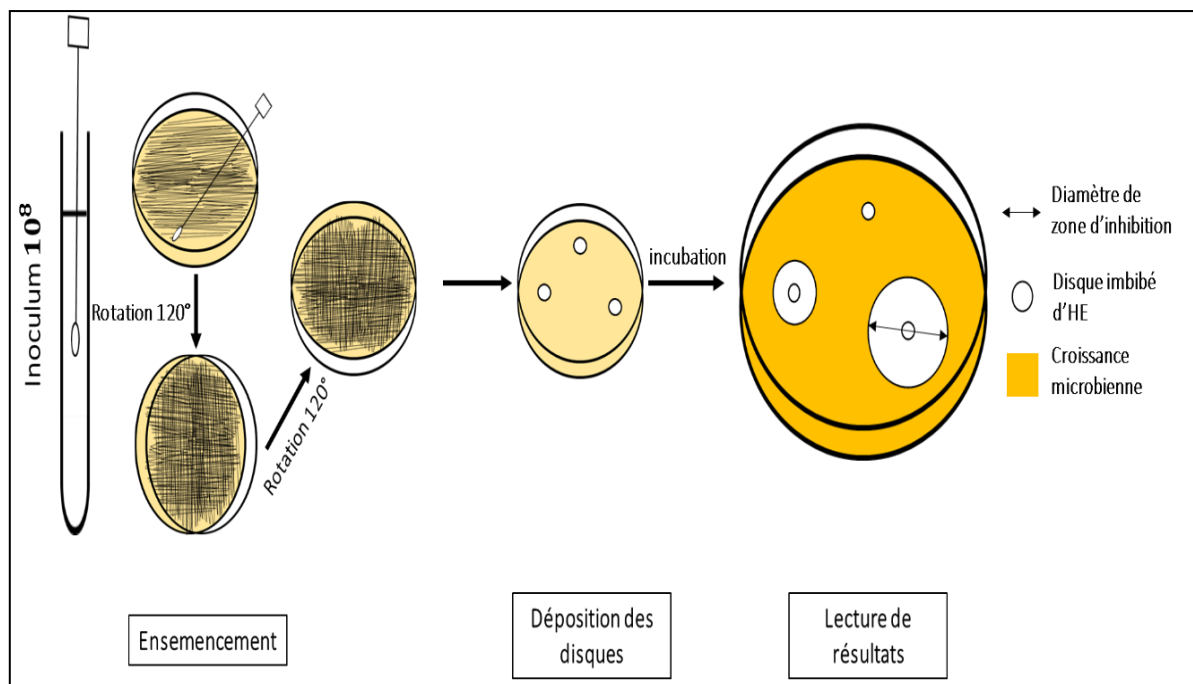


Figure 03. Protocole d'aromatogramme.

4.3.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI »

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée par la méthode de micro dilution à l'aide des microplaques de 96 puits (Aouni *et al.*, 2013).

➤ Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir de la suspension standardisée à 10^8 UFC/ml dilué au 1/100 par le même milieu de culture (BN) pour avoir une densité cellulaire équivalente à 10^6 UFC/ml.

➤ Protocole

Chaque HE a été diluée dix fois à partir de la solution mère de 500 μ l (200 μ l de HE avec 5 μ l de tween 80 et 295 μ l de BHIB) par des dilutions $\frac{1}{2}$ successives. Un mélange de bouillon BHIB et tween 80 à 1% (solution de dilution volume égale à 250 μ l) dans des tubes d'hémolyse stériles pour le but d'obtenir des concentrations comprises entre 40 % et 0.08% et une concentration de tween 80 à 1% constant (**Fig 04**).

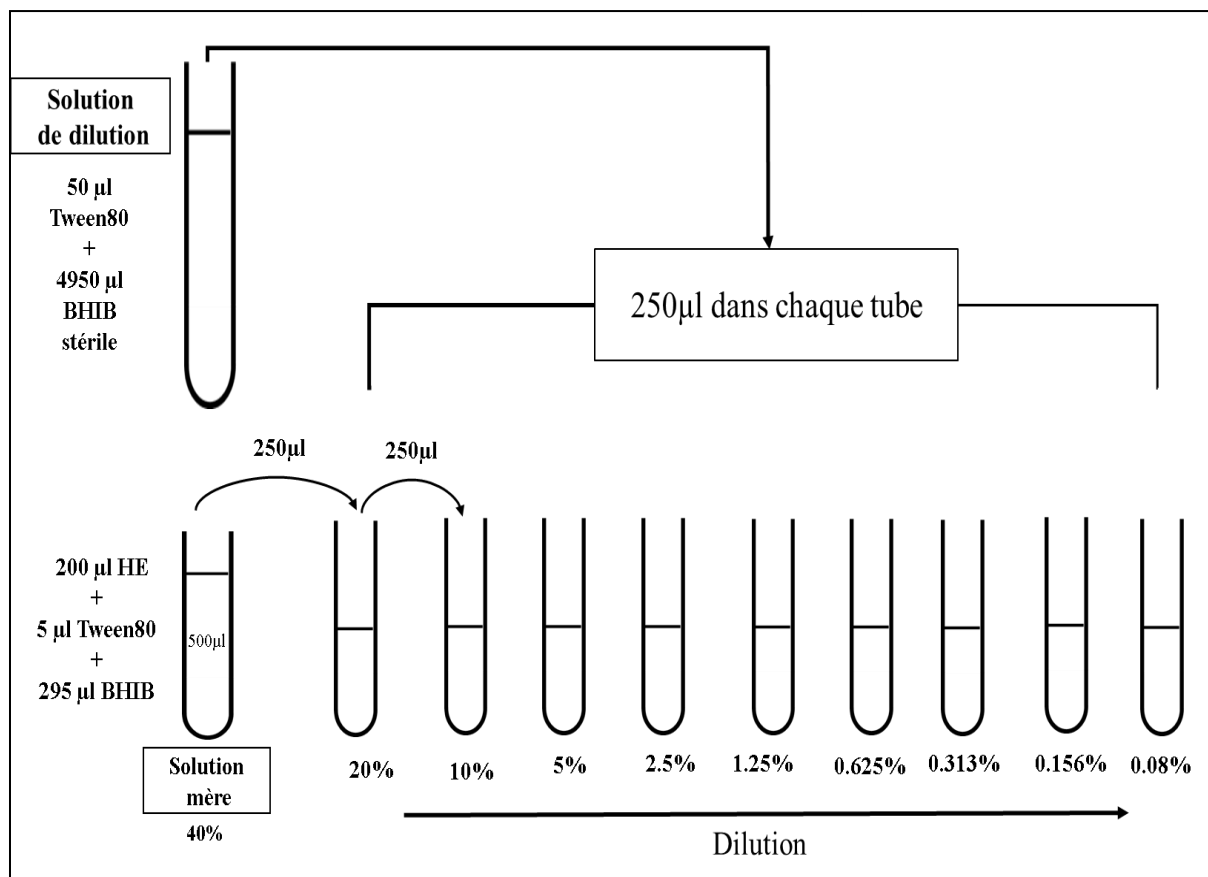


Figure 04. Préparation des dilutions des HEs.

Ensuite, six microplaques sont utilisées (deux microplaques pour chaque HE) dans lesquelles 90 µl de suspension microbienne de 10^6 UFC/ml est déposé avec 10 µl de chaque concentration (une rangée des puits pour chaque souche). Ainsi, les concentrations des HEs dans la microplaque sont compris entre 4% et 0.008% (**Fig 05**). Après incubation des microplaques à 37°C pendant 24h, la CMI est déterminée comme la plus petite concentration de l'HE pour laquelle la croissance n'est pas observée à l'œil nu (Absence de dépôt) (Yakhlef *et al.*, 2011).

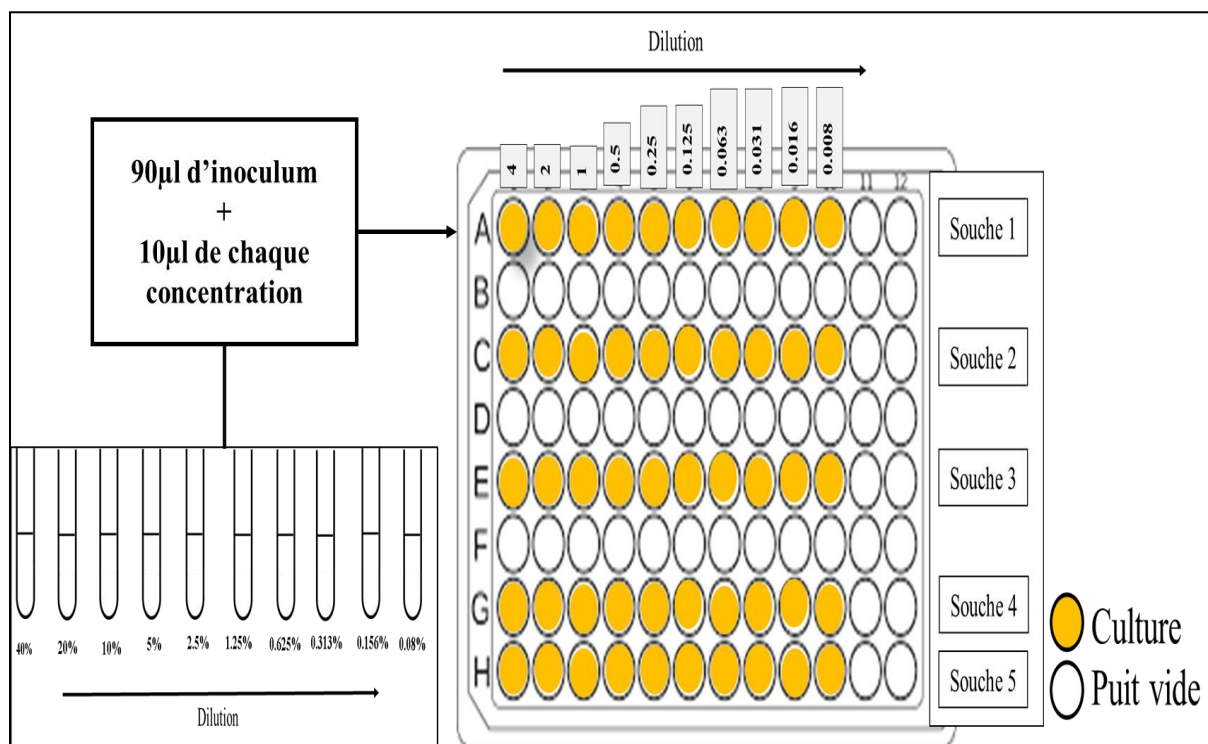


Figure 05. Préparation de la microplaque.

4.3.3. Détermination de CMB et CMF en milieu solide

La concentration minimale bactéricide (CMB) et celle fongicide (CMF) correspond à la plus faible concentration de l'HE capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum microbienne initial (Chebaibi *et al.*, 2016).

Cette méthode consiste à repiquer la suspension microbienne obtenu à partir des puits montrant une absence complète de la croissance microbienne (microplaque après la lecture de CMI) à l'aide d'un écouvillon en strié sur gélose Müller-Hinton (MH). Les boîtes ensemencées sont alors incubées à 37°C pendant 24h. La CMB (% v/v) de l'HE est déduite à partir de la première culture dépourvue de microorganisme (Chebaibi *et al.*, 2016).

4.3.4. Détermination des CMI de la formation de biofilms (CMIB)

Les CMI de la formation de biofilms ont été déterminées selon la méthode de Labrecque *et al.*(2006). Après la lecture de résultat des CMI de la croissance, les cellules microbiennes flottantes sont éliminées à l'aide d'une seringue et les puits sont ensuite rincés trois fois en utilisant l'eau distillée pour le but d'éliminé les cellules faiblement adhérentes. Un volume de

150µl de cristal violet à 0.4 % est ajouté dans chaque puits pendant 10 à 15 min pour colorer les biofilms. Ensuite, les puits ont été rincés cinq fois à l'eau distillée pour éliminer l'excès de cristal violet. Ensuite, un volume de 150µl d'éthanol à 99 % est ajouté dans chaque puits avec une agitation pendant 10 minutes. Les CMI de la formation de biofilm sont déterminés en tant que la plus faible concentration de HE pour laquelle la coloration n'est observée à l'œil nu (**Fig 06**) (Beckloff *et al.*, 2007).

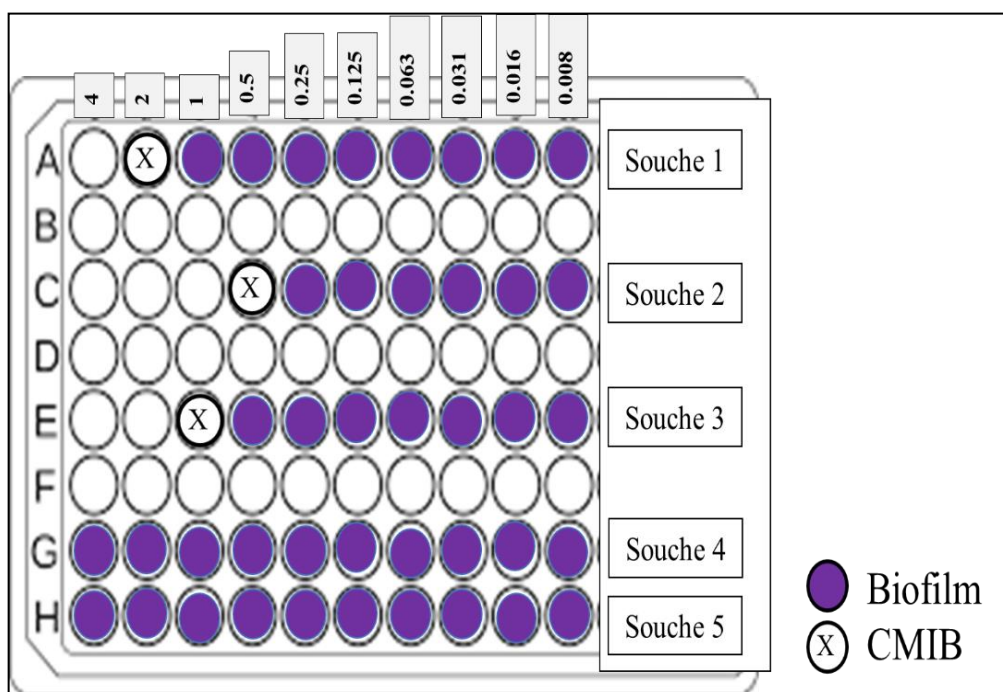


Figure 06. Schéma de microplaque pour lecture des résultats de CMIB.

Chapitre 5.

Résultats et discussion

5. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

5.1. Résultats d'aromatogramme

Le screening de l'activité antimicrobienne des HEs étudiées a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats des zones d'inhibition sont présentés dans le **Tab 05**.

Tableau 05. Résultats des diamètres des zones d'inhibition (en mm).

Microorganismes	Huiles essentielles					
	<i>Salvia spp</i>		<i>M. debilis</i>		<i>T. polium</i>	
	Ø	Int	Ø	Int	Ø	Int
SARM	8	R	15	S	10	S
<i>B. subtilis</i>	–	R	7	R	–	R
<i>E. faecalis</i>	–	R	12	S	–	R
<i>S. aureus</i> *	12	S	25	S	13	S
<i>E. coli</i>	–	R	12	S	–	R
<i>P. aeruginosa</i>	–	R	–	R	–	R
<i>K. pneumoniae</i>	–	R	10	S	–	R
<i>E. coli</i> *	–	R	–	R	–	R
<i>C. albicans</i>	–	R	–	R	–	R
<i>C. kefyr</i>	–	R	10	S	–	R

* : souche clinique, Int : interprétation, R : résistant, S : sensible, – : non déterminé. Ø : diamètre.

D'après les résultats d'aromatogramme obtenus, on remarque que l'HE la plus active envers les dix souches étudiées est celle de *M. debilis* avec formation des zones d'inhibition larges (7-25 mm). L'HE de *T. polium* a également montré une bonne activité antibactérienne sur deux souches bactériennes à savoir SARM et *S. aureus* clinique traduit par des zones plus ou moins large (10-13mm). Tandis que, les zones d'inhibition formées par l'huile de la sauge étudiée étaient réduites (8-12 mm) signifiant une activité modeste. Ainsi, les HEs sont classées par ordre décroissant comme suit : *M. debilis*, *T. polium* et *Salvia spp.* (**Fig 07**).

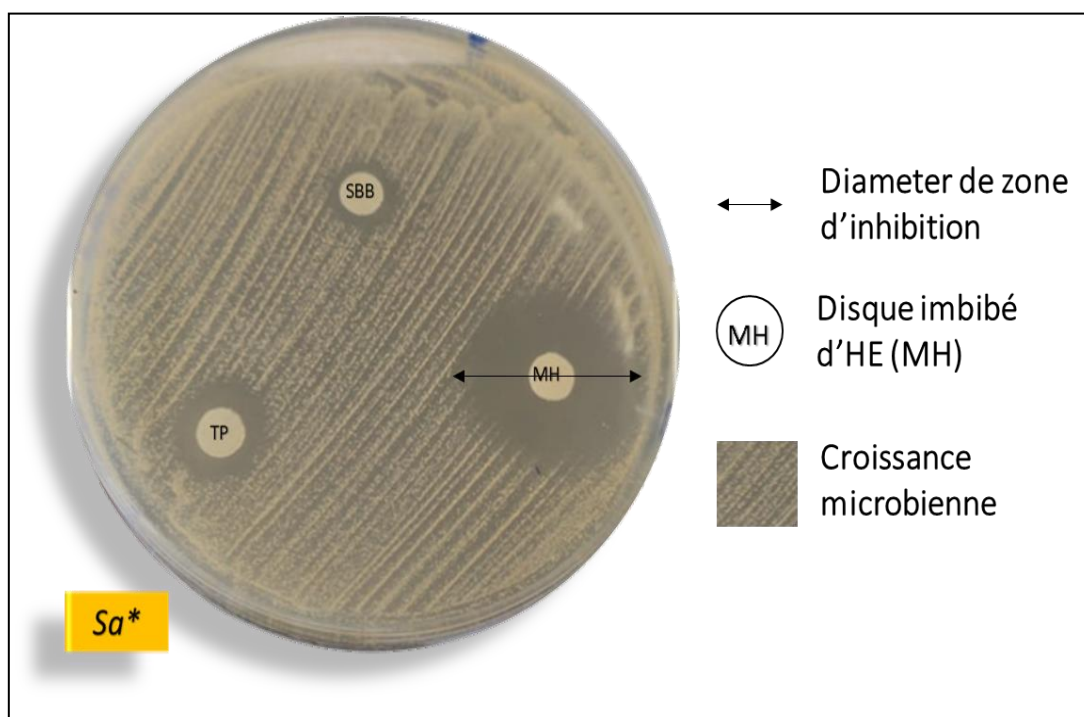


Figure 07. Diamètre des zones d'inhibition pour HEs étudiées TP : *Teucrium polium*, MH : *Micromeria debilis*, SBB : *Salvia spp* vis-à-vis l'espèce *S. aureus* clinique.

Les données littéraires sur l'activité antibactérienne d'huile essentielle de *M. debilis* sont rares. L'étude de Gherib *et al.* (2016) a montré que cette huile possède un effet antimicrobien significatif avec un large spectre d'action. Si on compare nos résultats vis-à-vis les souches étudiées (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. faecalis*, *C. albicans*) avec ceux trouvés dans cette étude, on remarque que les diamètres des zones d'inhibition sont supérieurs à ceux trouvés dans notre travail avec des zones claires dépassant 30 mm et allant jusqu'à 50 mm. La raison de cette variation peut être attribuée à la quantité utilisée dans cette étude (15 µl de huile/disque) par rapport à la quantité utilisée dans notre travail (5 µl de HE/disque).

D'autres auteurs ont également élucidé le potentiel antimicrobien de l'espèce *T. polium* vis-à-vis *S. aureus*. Djabou *et al.*, (2012) et Belmekki *et al.* (2013) ont constaté que l'activité

antimicrobienne est important envers *S.aureus* avec un diamètre de 18 mm et 16 mm, respectivement. Cette activité est supérieure à celle obtenus dans la présente étude. Par contre, Belmekki *et al.* (2013) l'huile de *T. polium* est présenté une activité contre des souches (*E.faecalis*, *E.coli*, *P.aeruginosa*) par rapport à notre résultats qui ne représente aucun effet antibactérienne sur les souche cités précédemment.

Pour l'huile de *Salvia spp*, lorsqu'on compare notre résultats sur les souches étudiées (*P.aeruginosa*, *S.aureus*, *E.coli*) avec celle obtenus par Benkherara *et al.*(2015), si le cas d'espèce de même genre (*Salvia officinalis*), on remarque que le diamètre des zones d'inhibition est semblable à celle trouvé dans notre étude pour *E.coli*. Tandis que les deux souches précédemment mentionnées sont inhibées avec des zones varient entre 5 à 29 mm.

Néanmoins, il faut noter que la méthode de diffusion sur gélose n'est pas la technique idéale pour quantifier le potentiel antimicrobien des HEs à cause de l'influence de plusieurs paramètres notamment la diffusion, viscosité de l'huile sur la largeur des zones d'inhibition (Benbelaid, 2015).

5.2. Détermination des CMI de la croissance microbienne

La concentration minimale inhibitrice des HEs étudiées a été effectuée par la méthode de micro dilution en milieu liquide, c'est une technique quantitative qui permet la détermination de la plus faible concentration inhibant la croissance microbienne. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tab 06**.

Tableau 06. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la croissance (%).

Microorganisme	Huiles essentielles		
	<i>Salvia spp</i>	<i>M. debilis</i>	<i>T. Polium</i>
SARM	–	4	–
<i>B. subtilis</i>	–	2	–
<i>E. faecalis</i>	–	4	–
<i>S. aureus</i> *	–	4	0,25
<i>E. coli</i>	4	2	–

<i>P. aeruginosa</i>	–	2	–
<i>K. pneumoniae</i>	–	4	–
<i>E. coli</i> *	–	4	–
<i>C. albicans</i>	4	4	–
<i>C. kefyr</i>	–	4	–

* : souche clinique, – : non déterminée

D'après les résultats obtenus, on remarque que les trois HES étudiées ont un effet inhibiteur significatif sur la croissance des souches testées avec des CMI variant de 0.25 % à 4 %. L'huile de *M. debilis* a montré un large spectre d'activité envers la majorité des souches par rapport aux autres HES étudiées. L'HE de *T. polium* a inhibé la croissance d'une seule souche à savoir la souche clinique de *S. aureus* avec une CMI égale à 0,25% qui représente la plus faible CMI trouvé. De son côté, l'HE de la sauge locale *Salvia spp* à inhibé la croissance deux souches microbienne *E. coli*, *C. albicans* avec une CMI de 4%.

Concernant le potentiel antifongique des HES étudiées, nous avons remarqué que celui-ci est très faible par rapport à l'activité antibactérienne. Les HES ayant montré des CMI étaient celles de *M. debilis* et *Salvia spp* avec des CMI de 4%. Alors que l'huile de *T. polium* s'est avérée inactive.

En revenant à la bibliographie, nous avons trouvé que l'HE de *M. debilis* a présenté des activités antimicrobiennes faibles par rapport à les nôtres (CMI entre 2 et 4%) avec des CMI plus élevées notamment vis-à-vis l'espèce bactérienne *E. coli*. Alors que la CMI enregistrée contre *E. faecalis* était similaire. (Chebaibi *et al.* 2016),

Plusieurs études ont été effectuées sur l'HE de *T. polium* dans le but de déterminer son activité antimicrobienne, notamment celle de Ali *et al.*(2018) ayant trouvé que l'HE de *T. polium* a une effet inhibiteur sur la croissance de *S. aureus*, *E. coli* et *B. subtilis* qui était la plus sensible des souches étudiées avec une CMI de 0.16%. Dans le même conteste, l'étude de Ait chaouche *et al.* (2018) portée sur l'évaluation de l'effet inhibiteur de l'HE de *T. polium* vis-à-vis *S. aureus* a mentionné que l'HE étudiée était active avec CMI de 0.03%. Tandis que,

Alreshidi *et al.*(2020) ont montré que l'huile *T. polium* a un niveau d'activité élevé contre *P. aeruginosa* et *Enterobacter cloacae*, ainsi qu'une activité modérée envers *E. coli*, *K pneumoniae*, *S. aureus* et *C. albicans*. Sachant que la plus une faible activité a été enregistrée contre *P. mirabilis* (souche environnementale). Si on compare nos résultats avec ceux trouvés par les auteurs mentionnés ci-dessus, on constate que les CMI enregistrées par l'HE de *T. polium* locale étaient nettement supérieures. En effet, nous avons trouvé que cette HE était efficace envers uniquement *S. aureus* (CMI 0.25%), à la différence des autres études ayant constaté que l'HE de *T. polium* a un large spectre antimicrobien.

5.3. Détermination de CMB et CMF

C'est le paramètre qui permet de déterminer l'effet fongicide ou bactéricide des HES étudiées. Dans cette expérience, la CMB et CMF sont déterminées pour les HES ayant inhibé la croissance des souches étudiées avec une concentration inférieure ou égale à 4%. Les résultats de ce test sont présentés dans le **Tab 07**.

Tableau 07. Concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF).

Microorganisme		Huiles essentielles		
		<i>Salvia spp</i>	<i>M.debilis</i>	<i>T. Polium</i>
SARM	CMI		4	
	CMB	/	4	/
	CMB/CMI		1	
<i>B. subtilis</i>	CMI		4	
	CMB	/	2	/
	CMB/CMI		2	
<i>E. faecalis</i>	CMI		4	
	CMB	/	4	/
	CMB/CMI		1	
<i>S. aureus</i> *	CMI	4	4	0.25
	CMB	4	4	2
	CMB/CMI	1	1	8
<i>E. coli</i>	CMI	4	2	
	CMB	/	2	/
	CMB/CMI		1	

	<u>CMI</u>		2	
<i>P. aeruginosa</i>	<u>CMB</u>	/	2	/
	CMB/CMI		1	
	<u>CMI</u>		4	
<i>K. pneumoniae</i>	<u>CMB</u>	/	4	/
	CMB/CMI		1	
	<u>CMI</u>		4	
<i>E. coli</i> *	<u>CMB</u>	/	4	/
	CMB/CMI		1	
	<u>CMI</u>	4	4	
<i>C. albicans</i>	<u>CMF</u>	/	4	/
	CMF/CMI		1	
	<u>CMI</u>		4	
<i>C. kefir</i>	<u>CMF</u>	/	/	/
	CMF/CMI			

* : souche clinique, / : non déterminée

Le rapport CMB/CMI et CMF/CMI permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide et/ou fongicide d'une HE. Lorsque ce rapport est inférieur à 4, l'HE est considérée comme bactéricide. (Chebaibi *et al.*, 2016)

D'après les résultats ci-dessus, on constate que la concentration minimale bactéricide (CMB) des trois HEs étudiées est significative. L'huile *M.debilis* a montré un effet bactéricide important sur les bactéries à Gram négatif, dont *E. coli* et *P. aeruginosa*, supérieur à celle des bactéries à Gram positif avec CMB de 2% et le rapport égale à 1. L'effet bactéricide de l'HE de *Salvia spp.* nécessite des concentrations supérieures à 4% (v/v). Tandis que l'huile de *Teucrium polium* a montré un effet bactériostatique uniquement vis-à-vis la souche clinique de *S. aureus*. Concernant les souches fongiques, nous avons constaté que les trois HEs étudiées sont dépourvues de l'effet fongicide.

D'autre part, la comparaison des résultats des CMI obtenus avec ceux des CMBs nous a montré que la souche *Staphylococcus aureus* d'origine clinique est la souche la plus sensible à l'effet bactéricide envers les huiles de *M. debilis* et *Salvia spp.* Par contre, l'huile de *Teucrium polium* a montré un effet bactériostatique à cause de son rapport CMB/CMI égale à 8.

5.4. CMI de la formation de biofilm

Les résultats obtenus pour les concentrations minimales inhibitrices de la formation de biofilm sont illustrés dans le **Tab 08**.

Tableau 08. Concentrations minimales inhibitrices (CMIB) de la formation du biofilm (%).

Microorganisme	Huiles essentielles		
	<i>Salvia spp</i>	<i>M. debilis</i>	<i>T. polium</i>
SARM	1	–	–
<i>B. subtilis</i>	4	–	–
<i>E. faecalis</i>	–	–	–
<i>S. aureus</i> *	–	–	0,5
<i>E. coli</i>	–	–	–
<i>P. aeruginosa</i>	4	–	–
<i>K. pneumoniae</i>	0.016	–	–
<i>E. coli</i> *	–	–	–
<i>C. albicans</i>	4	–	–
<i>C. kefyr</i>	–	–	–

* : souche clinique, – : non déterminée, SBB : *Salvia spp.*, TP : *Teucrium polium*, MH : *Micromeria debilis*.

D'après les résultats présentés dans le tableau ci-dessus, on remarque que les concentrations minimales inhibitrices de la formation du biofilm (CMIB) des HEs sont plus ou moins grandes par rapport les valeurs des CMIs.

L'huile de la sauge locale *Salvia spp* a démontré l'effet inhibiteur le plus significatif sur la formation des biofilms des souches étudiées avec des valeurs des CMIB variant de 0.016% à 4% (**Fig 08**). Par contre, les deux autres huiles (*T. polium* et *M. debilis*) ne présentent aucun

effet inhibiteur sur la formation de biofilm à une concentration inférieure ou égale à 4% sauf l'effet d'huile de *T. polium* sur la formation de biofilm par la souche *S. aureus* clinique (CMIB=0,5%). Également, nous avons constaté que le biofilm formé par la souche *K. pneumoniae* est le plus sensible envers l'HE de *Salvia spp* avec CMIB égale à 0.016%, suivi par SARM (CMIB=1%), *C. albicans* et CKF (CMIB=2%), ensuite la souche *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. subtilis* avec CMIB égale à 4%.

D'après l'étude d' Al-Bakri *et al.*, (2010), réalisée dans le but d'évaluer l'activité antibiofilm des HEs de sept espèces du genre *Salvia* envers *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*. Les auteurs ont trouvé des CMIB égales à 1%, 0.44% et 0.59%, respectivement. En comparant ces résultats avec les nôtres, on constate que ces CMIB sont supérieures à celles démontrées par l'HE de *Salvia spp*. Concernant l'activité antibiofilm des HEs de *M. debilis* et *T. polium* ne sont pas encore étudiées car nous n'avons pas trouvée aucune étude portée à propos de ce sujet dans la littérature.

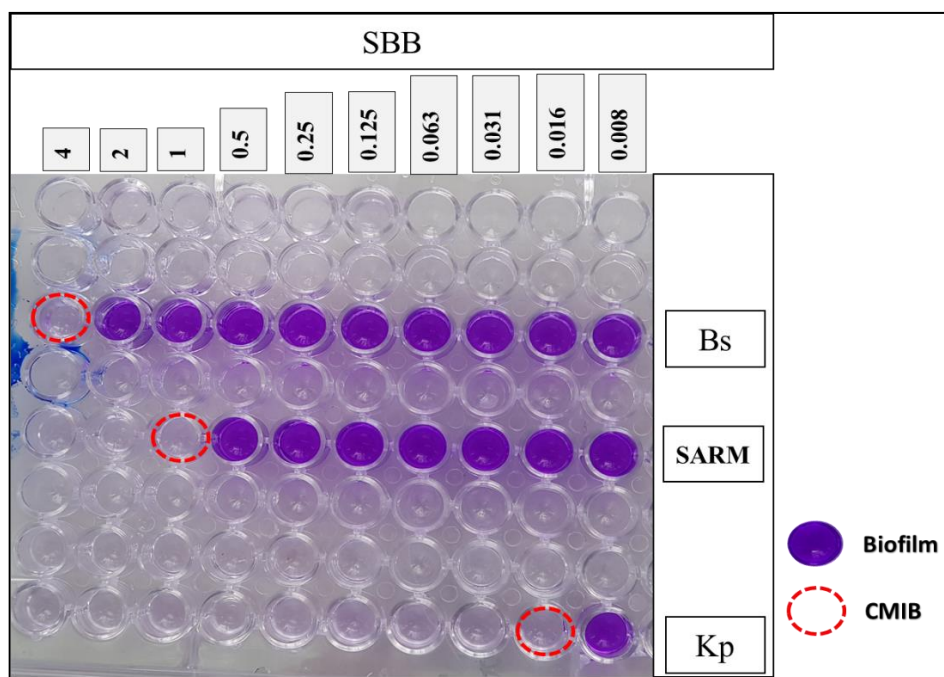


Figure 08. Résultats des activités anti biofilm de l'HE de *Salvia spp.* (SBB) vis-à-vis *k. pneumoniae* (kp), *B. subtilis* (Bs) et SARM.

Conclusion

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antimicrobienne et antibiofilm de trois plantes médicinales à savoir *Salvia spp*, *Micromeria debilis* et *Teucrium polium* vis-à-vis des microorganismes incriminés dans les infections liées aux soins.

Les HEs étudiées ont été testées envers dix souches microbiennes, dont quatre souches bactériennes à Gram positif (SARM, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* clinique), quatre souches à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* clinique) ainsi que deux levures (*Candida albicans* et *Candida kefyr*).

L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode d'aromatogramme nous a permis de constater que les trois HEs sont dotées d'un pouvoir inhibiteur intéressant variant en fonction des souches étudiées. Selon les zones d'inhibition créées, nous avons trouvé que l'huile de *M. debilis* exerce la meilleure activité (7-25mm) sur toutes les souches étudiées, suivi par l'huile de *T. polium* (10-13mm) et de *Salvia spp* (8-12mm). Ces deux dernières huiles étaient actives uniquement contre deux souches à savoir SARM et *S. aureus*.

Les résultats d'aromatogramme sont confirmés par les méthodes quantitatives à savoir les méthodes de détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI), bactéricide (CMB), fongicide (CMF) et inhibitrice de biofilm (CMIB). Les valeurs de CMI de la croissance planctonique enregistrées étaient comprises entre 0.25 à 4 %. Alors que celles des CMB étaient comprises entre 2% à 4%. La souche microbienne la plus sensible vis-à-vis l'effet antimicrobien des HEs étudiées e *S. aureus* d'origine clinique avec des CMI, CMB vis-à-vis l'HE de *Micromeria debilis* estimées à 0.25 % et 2%, respectivement. Nous avons trouvé également que les deux autres HEs, celles de *Salvia spp* et *Teucrium polium*, ont présenté un effet inhibiteur significatif envers la formation des biofilms microbiennes avec des CMIB arrivant jusqu'à 0.016 %.

À la lumière des résultats obtenus, on suggère en premier lieu l'utilisation des HEs étudiées dans les traitements des infections liées aux soins sous forme des antiseptiques ou pourquoi pas sous forme d'antibiotiques, après des études portant sur leur efficacité et toxicité *in vivo*. Il serait également très intéressant d'évaluer l'activité antioxydant, anti quorum sensing, antitumorale de ces HEs dans le but de leurs exploitations dans des secteurs pharmacologiques, cosmétiques et agro-alimentaires.

Références Bibliographiques

- AIT CHAUCHE, F. S. (2018). Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide des huiles essentielles et des extraits de deux lamiaceae. Thèse de doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique. Alger. 216 p.
- Al-Bakri, A. G., Othman, G., & Afifi, F. U. (2010). Determination of the antibiofilm, antiadhesive, and anti-MRSA activities of seven *Salvia* species. *Pharmacognosy Magazine*, 6(24), 264.
- Albrecht, A. (2015). Les infections nosocomiales d'origine bactérienne, ce que doit savoir le pharmacien d'officine. Thèse de doctorat. Université de Lorraine. 114 p.
- Ali, F., Jan, A. K., Khan, N. M., Ali, R., Mukhtiar, M., Khan, S., ... Aziz, R. (2018). Selective biological activities and phytochemical profiling of two wild plant species, *Teucrium polium* and *Capsicum annum* from Sheringal, Pakistan. *Chiang Mai Journal of Science*, 45, 881-887.
- Alreshidi, M., Noumi, E., Bouslama, L., Ceylan, O., Veetil, V. N., Adnan, M., ... Al-Motair, K. A. (2020). Phytochemical screening, antibacterial, antifungal, antiviral, cytotoxic, and anti-quorum-sensing properties of *Teucrium polium* L. Aerial parts methanolic extract. *Plants*, 9(11), 1418.
- Aouni, M., Pelen, F., et Soulimani, R. (2013). Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie*, 11(4), 225-236.
- Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., et Laglaoui, A. (2014). Evaluation des propriétés anti-adhésives et biocides des huiles essentielles vis-à-vis des biofilms formés sur de l'acier inoxydable. Journées Jeunes Chercheurs 3e Edition, Université Moulay Ismail, Meknès, Maroc.

- Beckloff, N., Laube, D., Castro, T., Furgang, D., Park, S., Perlin, D., ... Tew, G. N. (2007). Activity of an antimicrobial peptide mimetic against planktonic and biofilm cultures of oral pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(11), 4125.
- Belmekki, N., Bendimerad, N., et Bekhechi, C. (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.123p
- Benkherara, S., Bordjiba, O., et Djahra, A. B. (2015). Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. *Phytothérapie*, 13(1), 14-18.
- Boucekrit, M. (2018). Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux apiaceae *Elaeoselinum asclepium (L.) Bertol.* Et *Margotia gummifera (Desf.) Lange*. Thèse de doctorat. Université de setif.154 p.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, A., et Kameli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. Une, 3, 4. *Revue Agrobiologia* (2019) 9(2). p 1653-1659.
- Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat. Université d'Avignon.128 p.
- Bouزيد, D. (2018). Évaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum (Roth) G. DON*. Thèse de doctorat. Université de setif. 88p.

- Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., et Ed-Dra, A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14(6), 355-362.
- CLSI. (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard*. Clinical and Laboratory Standards Institute. 63.p.
- Delmont, J., Pichard, E., Jaureguiberry, S., Marchou, B., Parola, P., Simon, F., ... Berrebi, A. (2012). *E-Pilly TROP Maladies infectieuses tropicales*. Alinéa Plus. 972 p.
- de Rochemonteix, A. de C. (2009). *Les biofilms et la peau*. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort Paris.
- Djabou, N. (2012). *Caractérisation et variabilité des plantes à parfum aromatiques et médicinales de Corse et de l'ouest Algérien*, Thèse de doctorat. Université Pascal Paoli, Université de Tlemcen. 209 p.
- Djenane, D., Lefsih, K., Yangüela, J., et Roncalés, P. (2011). Composition chimique et activité anti-Salmonella enteritidis CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à 7±1 C. *Phytothérapie*, 9(6), 343-353.
- El Kettani, A., Zerouali, K., Diawara, I., Ouhadous, M., Harrar, N., Belabbes, H., & Elmdaghri, N. (2017). Les bactériémies associées aux soins en réanimation au centre hospitalier universitaire Ibn Rochd, casablanca, Maroc. *Santé publique*, 29(2), 209-213.
- Elfane, M., Jebbar, S., Daoudi, N., Dollo, I., Sodqi, M., Chakib, A., ... Marih, L. (2016). IAS-03-Nosocomial urinary tract infections : Epidemiological and bacteriological profile [IAS-03-Infections urinaires nosocomiales : Profil épidémiologique et bactériologique].

- Fournel, L. (2017). Les infections du site opératoire. *Revue Francophone de Cicatrisation*, 1(2), 27-30.
- Gherib, M., Bekhechi, C., Paoli, M., Atik Bekkara, F., Bighelli, A., Casanova, J., et Tomi, F. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts of *Micromeria debilis* Pomel from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 28(5), 383-390.
- Hayes, A., et Markovic, B. (2002). Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 40(4), 535-543.
- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M.-F. (2008). Étude de six huiles essentielles : Composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6(3), 160-164.
- Kaoutar, B., Joly, C., L'Hériteau, F., Barbut, F., Robert, J., Denis, M., ... Costa, Y. (2004). Nosocomial infections and hospital mortality : A multicentre epidemiological study. *Journal of hospital infection*, 58(4), 268-275.
- Khan, H. A., Baig, F. K., et Mehboob, R. (2017). Nosocomial infections : Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 478-482.
- Labrecque, J., Bodet, C., Chandad, F., et Grenier, D. (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.
- Lamamra, M. (2018). Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'*Ammiopsis aristidis* Coss.(Syn. *Daucus aristidis* Coss.) et d'*Achillea santolinoides* Lag. Université de setif. 92 p.

- Lamia, C. (2013). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. Université Tanger, Maroc. 174 p.
- Lazrak, M. A., El Bardai, G., Jaafour, S., Kabbali, N., Arrayhani, M., et Houssaini, T. S. (2014). Profil de l'infection urinaire nosocomiale dans un service de néphrologie. *The Pan African Medical Journal*, 19.
- Lebeaux, D., & Ghigo, J.-M. (2012). Infections associées aux biofilms-Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale médecine/sciences, 28(8-9), 727-739.
- Llanos-Torres, K. H., Pérez-Orozco, R., et Málaga, G. (2021). Nosocomial infections in emergency observation units and their association with overcrowding and ventilation. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 37, 721-725.
- Marouf, A., et Tremblin, G. (2015). *Abrégé de biochimie appliquée*. EDP sciences. 592 p.
- Mayer, F. (2012). Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.
- Naouel, O. (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et persil. Thèse de doctorat en chimie organique, université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. 198p.
- Niu, C., & Gilbert, E. (2004). Colorimetric method for identifying plant essential oil components that affect biofilm formation and structure. *Applied and environmental microbiology*, 70(12), 6951-6956.
- Parker, M. (1979). *Guide des méthodes de laboratoire applicables aux infections hospitalières*. Organisation mondiale de la Santé. Bureau régional de l'Europe.

- Pozzetto, B. (2009). Micro-organismes responsables d'infections nosocomiales. 1-10.
- Qassimi, L. (2010). Épidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation (à propos de 147 cas). Université sidi mohammed ben abdellah. Maroc. 148 p.
- Roux, A., et Ghigo, J.-M. (2006). Les biofilms bactériens. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France. Communication présentée le 16 mars 2006.
- Said, S. F. (2005). Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie B de l'hôpital du point G. thèse de Doctorat. Université du Mali. 97 p.
- Sainte-Marie, A., Cuvelier, A., Muir, J., Marini, H., et Merle, V. (2016). Caractéristiques des pneumopathies nosocomiales au sein _une unité de soins intensifs respiratoires (USIR). *Revue Des Maladies Respiratoires*, 33.
- Saley younoussa, F. (2020). Pneumopathies nosocomiales en reanimation a l'hôpital militaire d'instruction mohammed v de rabat (hmimv) incidence, epidemiologie et impact sur la morbite et mortalite. Thèse de doctorat. Maroc. 161p.
- Saur, T. (2014). Structuration morphologique et microbiologique des biofilms multi-espèces : De l'adhésion au biofilm mature. Thèse de doctorat. Université Montpellier 2 (Sciences et Techniques). 215 p.
- Tremblay, Y., Hathroubi, S., et Jacques, M. (2014). Les biofilms bactériens : Leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78.
- World Health Organization. (2008). Prévention des infections nosocomiales : Guide pratique. Genève: Organisation mondiale de la Santé.
- Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M.-C., et Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209-218.

Annexe 1. Les plantes étudiées

1. *Teucrium polium* (الجعد, تيمزورين)

Position systématique

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

2. *Micromeria debilis* Pomel (نابطة)

Position systématique

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Class	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Micromeria</i>
Espèce	<i>Micromeria debilis</i>

3. *Salvia spp* (الميرمية)

Position systématique

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Class	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia spp.</i>



Micromeria debilis



Teucrium polium

Annexe 2. Milieux de culture

Pour 1 litre de milieu

Gélose nutritive

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

pH 7,0 \pm 0,2.

Gélose Mueller-Hinton

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

pH= 7,4.

Bouillon cœur-cerveille (BHIB)

Extrait cœur-cerveille	17,5 g
Peptone pancréatique de gélatine	10,0 g
Chlorure de sodium	5 g
Phosphate disodique	2,5 g
Glucose	2,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 \pm 0,2.

Bouillon nutritif

Peptone	5 g
Extrait de viande	3 g

pH final à 25°C : 6,8 \pm 0,2

المخلص

تمثل العدوى المتعلقة بالرعاية الصحية حالياً مشكلة صحية عامة على نطاق عالمي بسبب مراضتها ووفياتها المرتبطة بالتلوث الجرثومي أو الفطري. غالباً ما تكون الكائنات الحية الدقيقة المسؤولة عن عدوى المستشفيات متعددة المقاومة للعوامل المضادة للميكروبات المستخدمة في الخدمات الطبية. ومع ذلك، فإن تكوين الأغشية الحيوية (البيوفيلم) يمكن أن يجعل الوضع أسوأ لأنها تعتبر شكلاً من أشكال المقاومة يصعب القضاء عليها. إن الهدف من هذا العمل هو تقييم نشاط المضاد للميكروبات وللغشاء الحيوي للزيوت الطيارة المستخرجة من ثلاث نباتات عطرية محلية (*Micromeria debilis*، *Teucrium polium*، *Salvia spp*) ضد عشرة سلالات بكتيرية وفطرية مسؤولة عن هذا النوع من العدوى. تم اختبار فعالية الزيوت العطرية بعدة طرق وهي: الانتشار على الوسط الصلب، تحديد تراكيز المثبطة للنمو (CMI)، المبيدة للبكتيريا (CMB)، المبيدة للفطريات (CMF) والتراكيز المثبطة لتكوين الأغشية الحيوية (CMB). أظهرت النتائج أن زيت نبتة (*Micromeria debilis*) هو الأكثر نشاطاً على جميع السلالات الميكروبية المدروسة مخلفاً مناطق تثبيطية تصل إلى 25 ملليمتر مع تراكيز (CMI, CMB, CMF) تختلف من 2% إلى 4%، بينما الزينان الآخران لنبتتي *Teucrium polium* نشيطين على سلالتين فقط وهما: (SARM, *S. aureus*).

الكلمات المفتاحية: العدوى المتعلقة بالرعاية الصحية، الغشاء الحيوي، الزيوت الطيارة، *Salvia spp*، *Teucrium polium*، *Micromeria debilis*، نشاط المضاد للميكروبات وللغشاء الحيوي.

Résumé

Les infections liées aux soins représentent actuellement un problème mondial de santé publique à cause de leur morbidité et mortalité liées aux contaminations bactériennes ou fongiques. Les microorganismes responsables des infections nosocomiales sont le plus souvent multi résistantes envers les agents antimicrobiens utilisés dans les services médicaux. Toutefois, la formation des Biofilms peut aggraver la situation car ces derniers sont considérés comme une forme de résistance difficile à éradiquer. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antimicrobienne et antibiofilm des huiles essentielles de trois plantes locales (*Salvia spp*, *Teucrium polium*, *Micromeria debilis*) envers dix souches bactériennes et fongiques responsables des infections liées aux soins. Plusieurs méthodes ont été employées pour déterminer le potentiel antimicrobien des huiles étudiées à savoir l'aromatogramme, la détermination des concentrations minimales inhibitrices de la croissance (CMI), bactéricides (CMB), fongicides (CMF) et inhibitrices de la formation de biofilm (CMIB). Les résultats ont montré que l'huile de *Micromeria debilis* est la plus active vis-à-vis toutes les souches étudiées avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 25mm et des CMI, CMB, CMF varient entre 2 à 4 %. Alors que les deux autres huiles (*Teucrium polium*, *Salvia spp*.) sont uniquement actives envers deux souches microbiennes (SARM, *S. aureus*).

Mots clés : Activité antimicrobienne et antibiofilm ; Biofilm ; Huiles essentielles ; Infections liées aux soins ; *Micromeria debilis* ; *Salvia spp* ; *Teucrium polium*.

Abstract

Healthcare-related infections currently represent a global public health problem because of their morbidity and mortality linked to bacterial or fungal contamination. The microorganisms responsible for nosocomial infections are most often multidrug resistant to antimicrobial agents used in medical services. However, the formation of Biofilms can make the situation worse because they are considered a form of resistance that is difficult to eradicate. The objective of this work is to evaluate the antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oils of three local plants (*Salvia spp*, *Teucrium polium*, *Micromeria debilis*) against ten bacterial and fungal strains responsible for healthcare-related infections. Several methods have been used, namely aromatogram, minimal inhibitor concentrations, of growth (MIC), bactericide (MBC), fungicide (MFC), Biofilm inhibitor (MICB). The results shown that *Micromeria debilis* oil is the most active in all strains studied with inhibition zones up to 25mm and MIC, MBC, MFC from 2% to 4%, while the other two oils (*Teucrium polium*, *Salvia spp*) are active on two microbial strains only (*MRSA*, *S.aureus*).

Key words: Care-related infections, Biofilm, essential oils, *Micromeria debilis*, *Salvia spp*, *Teucrium polium*, Antimicrobial and Antibiofilm.