



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 / 2023

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :

GORMI Selma et LEMBARKI Maroua

Le: dimanche 25 juin 2023

Etude des activités antibactériennes de cinq plantes médicinales de la région de Biskra

Jury:

Mme Asma MEDDOUR	MCB	Université de Biskra	Président
Mme Manal DJOUAMAA	MAA	Université de Biskra	Examineur
M. Fethi BENBELAID	MCA	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mr BENBELAID Fethi, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Notre remerciement s'adresse à Mme MEBARKI Salsabil pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements. Nous sommes reconnaissantes pour son engagement, sa disponibilité et son accompagnement précieux. Sa contribution a joué un rôle essentiel dans notre parcours, et nous lui exprimons notre gratitude sincère.

Notre remerciement s'adresse également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Nous tenons aussi à remercier les membres de jury qui nous ont fait honneur d'examiner ce travail.

Enfin, nous renouvelons nos remerciements à ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire de Master à ma famille, qui a été mon soutien constant tout au long de ce parcours. Leur amour, encouragement et compréhension ont été essentiels pour mon accomplissement académique.

À mon cher père, Je dédie ce mémoire avec une gratitude immense et un amour sincère. Tu as été mon pilier, mon soutien inconditionnel et ma plus grande source d'inspiration tout au long de ma vie.

À la plus merveilleuse de toutes les femmes au monde, celle qui m'a transmis sa générosité, celle qui m'a appris à pardonner, à aimer et à donner le meilleur à moi ; MAMAN que j'aime.

À mes deux chères sœurs Meriem et Biba, je vous souhaite une agréable vie, pleine de bonheur et de succès.

À mes chers frères. Khaled, Nadir et Abdo. Qu'Allah les préserve et les protège.

À mon binôme dans ce travail mon amie d'enfance Maroua.

À toutes mes chères amies.

J'adresse également ma reconnaissance à mes professeurs et mon encadrant Mr. Fethi BENBELAID, dont la patience, l'expertise et les conseils avisés m'ont guidé dans la réalisation de ce travail de recherche.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce mémoire. Que cette humble dédicace témoigne de ma reconnaissance et de ma gratitude envers ceux qui ont été présents à mes côtés dans cette aventure académique. Merci infiniment.

Selma

Dédicace

"À mes parents, qui ont été ma source d'inspiration et de soutien inébranlable tout au long de ma vie. Leur amour, leur encouragement et leur confiance en moi m'ont permis de réaliser ce mémoire de Master. Je leur dédie ce travail avec une profonde gratitude.

À mes professeurs et mon encadrant Mr. Fethi BENBELAID, je vous suis reconnaissant pour votre expertise, votre patience et vos précieux conseils.

À mes amis, merci d'avoir partagé cette aventure avec moi. Vos discussions stimulantes, votre soutien mutuel et vos encouragements ont rendu cette expérience d'apprentissage encore plus enrichissante. Je souhaite également exprimer ma reconnaissance envers toutes les personnes qui ont contribué à ma recherche, que ce soit par leurs conseils, leurs ressources ou leur participation. Votre collaboration a été essentielle pour la réalisation de ce mémoire.

Enfin, Que cette dédicace témoigne de ma profonde gratitude envers tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire de Master. Merci du fond du cœur."

Maroua

Table des matières

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

Première partie: Partie bibliographique

Chapitre.1 Maladies infectieuses

1.1. Généralités	3
1.2. Agents responsables de maladies infectieuses.....	3
1.2.1. Bactéries.....	3
1.2.2. Champignons.....	3
1.2.3. Virus.....	4
1.3. Modes de transmission des maladies infectieuses	4
1.3.1. Infections communautaires	4
1.3.2. Infections nosocomiales	5
1.4. Résistance bactérienne	6
1.4.1. Résistance naturelle	6
1.4.2. Résistance acquise	6

Chapitre. 2 Huiles essentielles

2.1. Généralités	7
2.2. Propriétés physiques.....	7
2.3. Répartition et localisation.....	7
2.4. Composition chimique	8
2.5. Activité antimicrobienne	10
2.5.1. Activité antibactérienne	10
2.5.2. Activité antifongique	10

2.5.3. Mode d'action des huiles essentielles	10
--	----

Deuxième partie: partie expérimentale

Chapitre.3 Matériel et méthodes

3.1. Matériel végétal	11
3.2. Extraction des huiles essentielles	11
3.3. Conservation des huiles essentielles	11
3.4. Analyse chimique des huiles essentielles	11
3.5. Souches bactériennes étudiées	12
3.5.1. Souches d'origine clinique	12
3.5.2. Souches de référence	13
3.6. Activité antibactérienne des huiles essentielles	13
3.6.1. Méthode de diffusion sur gélose « Aromatogramme »	13
3.6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI »	14

Chapitre. 4 Résultats et discussion

4.1. Rendements en huiles essentielles	17
4.2. Composition chimique des huiles essentielles	19
4.3. Activités antibactériennes des huiles essentielles	21
4.3.1. Résultats d'aromatogramme	21
4.3.2. CMI de la croissance bactérienne	23
Conclusion	25
Références bibliographiques	27
Annexes	
Résumé	

Liste des Tableaux

Tableau 1. Liste de souches bactériennes (d'origine clinique) testées.....	12
Tableau 2. Liste de souches référence étudiées.	13
Tableau 3. Rendement en huiles essentielles et la durée d'extraction.	17
Tableau 4. Comparaison des rendements en huiles essentielles des plantes étudiées avec d'autres travaux.	18
Tableau 5. Composition chimique des huiles essentielles étudiées.	19
Tableau 6. Comparaison de la composition chimique de nos huiles essentielles avec celle rapportée dans la bibliographie.	21
Tableau 7. Résultats des diamètres des zones d'inhibition (en mm).....	22
Tableau 8. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la croissance (%).	23

Liste des Figures

Figure 1. Présentation schématique de la transmission vectorielle	5
Figure 2. Structure chimique de quelques composés d'huiles essentielles.....	9
Figure 3. Appareil d'extraction des huiles essentielles par par entraînement à la vapeur d'eau de type Clevenger (photo originale).....	12
Figure 4. Protocole d'aromatogramme.....	15
Figure 5. Préparation des dilutions des huiles essentielles.	15
Figure 6. Préparation de la microplaque.....	16
Figure 7. Diamètre des zones d'inhibition formée par les huiles essentielles étudiées.....	22
Figure 8. <i>Artemisia herba alba</i>	28
Figure 9. <i>Ammoides pusilla</i>	28
Figure 10. <i>Thymus fontanesii</i>	28
Figure 11. <i>Rosmarinus eriocalyx</i>	28
Figure 12. <i>Salvia officinalis</i>	28

Liste des abréviations

- * : souche clinique.
- AFNOR** : Association française de normalisation.
- AHA** : *Artemisia herba alba*.
- ATCC** : American Type Culture Collection.
- AV** : *Ammoides verticillata*.
- BHIB** : Brain Heart Infusion Broth.
- CG** : Chromatographie en phase gazeuse.
- CMI** : Concentration minimale inhibitrice.
- Es** : Extrêmement sensible.
- FID** : détecteur à ionisation de flamme
- HE** : Huile essentielle.
- Int** : interprétation.
- IR** : Indices de rétention.
- MH** : Mueller-Hinton.
- Ø** : diamètre.
- R** : résistante.
- ROS** : *Rosmarinus eriocalyx*.
- S** : sensible.
- SIDA** : Syndrome d'immunodéficience acquise.
- SM** : Spectrométrie en masse.
- SO** : *Salvia officinalis*.
- Thym** : *Thymus fontanesii*.
- Ts** : Très sensible.
- UFC** : Unité formant colonie.

Introduction générale

Introduction générale

Les maladies infectieuses constituent une menace constante à cause de l'émergence contenue de nouveaux souches de bactéries pathogènes et la réapparition de maladies étant considérées, jusqu'à alors, disparues. Étant donné que ces maladies infectieuses sont en constant évolution, la science et la médecine doivent évoluer au même rythme pour y faire face. (Jawerth, 2020)

La résistance aux antibiotiques est un phénomène biologique difficile à éliminer selon les recherches actuelles. Autrefois, l'utilisation d'antibiotiques semblait avoir maîtrisé plusieurs maladies et de nombreux progrès scientifiques ont laissé entrevoir l'éradication possible de nombreuses pathologies. Cependant, la résistance croissante des microorganismes et l'émergence régulière de nouveaux agents infectieux ont infirmé ces pronostics optimistes. Au cours des vingt dernières années, de nombreux déterminants de résistance ont été identifiés avec l'émergence de bactéries de plus en plus résistantes. Aucune espèce bactérienne connue et aucun antibiotique ne sont aujourd'hui à l'abri de la résistance. La découverte de nouvelles molécules antibiotiques pour remplacer les antibiotiques conventionnels devenus inefficaces est désormais une nécessité absolue, en particulier face à la menace des germes multi-résistants. (Barchan *et al.*, 2016)

Depuis l'Antiquité, l'utilisation des plantes médicinales est courante chez les populations anciennes. De nos jours, les produits naturels sont de plus en plus utilisés dans les industries agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. En effet, les plantes sont une source importante de substances actives ainsi utilisées dans le monde entier, avec au moins 35 000 espèces recensées. L'Algérie, grâce à sa diversité de climats, de sols, de reliefs et de situations géographiques, présente une flore de 3 510 espèces, dont 450 sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays. (Yamina *et al.*, 2017)

L'extraction d'huiles essentielles à haute valeur ajoutée à partir de matières végétales suscite actuellement beaucoup d'intérêt en raison de leurs activités biologiques, telles que l'activité antimicrobienne, antioxydant, insecticide, anti-inflammatoire, anti-cancérogène, antidiabétique, etc. Ces huiles sont largement utilisées dans plusieurs secteurs industriels. (Deschepper, 2017)

Dans le même contexte de valoriser les huiles essentielles obtenues de plantes de la flore locale, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de cinq plantes aromatiques à savoir le *Thymus fontanesii*, *Ammoides verticillata*, *Artemisia herba alba*, *Salvia officinalis* et *Rosmarinus eriocalyx* vis-à-vis cinq souches bactériennes pathogènes.

Partie

Bibliographique

Chapitre 1

Maladies infectieuses

1.1. Généralités

Les maladies infectieuses regroupent toutes les maladies causées par des agents pathogènes qui peuvent être des bactéries, des virus, des parasites ou des champignons. Après leur introduction dans l'organisme, ces agents pathogènes peuvent se multiplier et perturber les fonctions corporelles. (Jawerth, 2020) Ces affections constituent un grave problème de santé, pour les pays développés, comme pour les pays émergents. Elles sont responsables d'environ un tiers du total des décès (46% des décès dans les pays en développement). (Meulen, 2006)

Environ 400 agents infectieux de divers types sont connus. Sur le milieu de travail, les infections les plus courantes sont causées par des virus et des bactéries, telles que les infections par le virus du SIDA ou les hépatites.(Chaib, 2020)

1.2. Agents responsables de maladies infectieuses

1.2.1. Bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes procaryotes, unicellulaires, ont une taille comprise entre 0,3 et 5 μm . Elles ont trois formes de base: les cocci, les bâtonnets droits et les bâtonnets courbés ou spiralés. Elles sont capables de survivre partout avec leurs propres forces(ex: le bacille de Koch responsable de la tuberculose, *Listeria Monocytogènes* responsable de la listériose).(Chaib, 2020 ; Kayser *et al.*, 2005)

1.2.2. Champignons

Les champignons sont des micro-organismes eucaryotes (domaine eucarya) omniprésents dans la nature. Seulement environ 200 des milliers d'espèces ont été identifiés comme agents pathogènes humains (*Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *C. albicans* ...) et parmi ces espèces pathogènes connues moins d'une douzaine sont responsables de plus de 90% de toutes les infections fongiques humaines.(Kayser *et al.*, 2005)

1.2.3. Virus

Les virus sont de petits agents infectieux qui parasitent à la fois les procaryotes et les eucaryotes. Presque tous les organismes vivants sont des hôtes d'un ou plusieurs virus. Ces derniers peuvent soit détruire leur hôte, soit persister chez lui pendant de longues périodes sans causer de dommages apparents. Ils peuvent même introduire un nouveau caractère phénotypique chez l'organisme infecté, comme la toxine diphtérique codée par le bactériophage bêta *Corynebacterium diphtheriae*. La plupart des infections virales sont asymptomatiques ou ne provoquent que des atteintes bénignes. Cependant, les virus peuvent également causer des infections aiguës graves, parfois mortelles (comme la fièvre jaune), ou des atteintes chroniques dont les conséquences sont graves à long terme (comme l'hépatite B). (Faou, 2012)

1.3. Modes de transmission des maladies infectieuses

1.3.1. Infections communautaires

➤ Transmission par contact direct

La transmission directe se fait par le transfert d'un agent infectieux, sans élément intermédiaire, d'un hôte infectieux (humain ou animal) à une porte d'entrée d'un hôte humain susceptible (toucher, mordre, rapports sexuels, projection directe de gouttelettes pharyngées lors d'éternuements, la toux, crachat...). (Fontenille *et al.*, 2009)

➤ Transmission par contact indirect

La transmission indirecte nécessite un élément intermédiaire ou un vecteur (**Figure 1**), au niveau duquel l'agent se multiplie ou pas, qui peut être un véhicule contaminé (eau, aliment, objet, produit biologique, sang, organe, ustensile médical, main contaminée d'un soignant...) ou des vecteurs vivants. (Desenclos et De Valk, 2005)

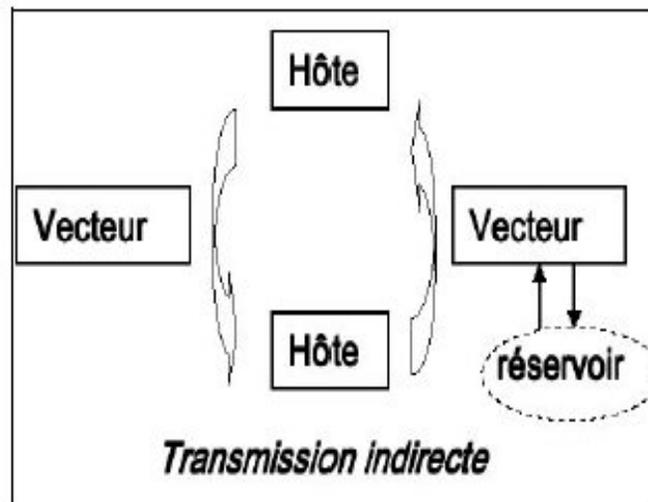


Figure 1. Présentation schématique de la transmission vectorielle.(Fontenille *et al.*, 2009)

➤ Transmission aérienne

La transmission aérienne permet d'obtenir, un agent infectieux présent dans l'air, le plus souvent par voie respiratoire. L'agent est soit suspendu dans la partie sèche, après évaporation, des gouttelettes de Pflügge émises lors de la toux de l'hôte infecté (elles peuvent y rester en suspension de manière prolongée) soit par des poussières émises depuis le sol ou d'autres sources et contenant l'agent (spores de champignon, virus *Puumala* du campagnol excrété dans le milieu extérieur et aérosolisé dans les poussières...). (Desenclos et De Valk, 2005)

1.3.2. Infections nosocomiales

Les infections nosocomiales sont des infections bactériennes, virales ou fongiques contractées pendant l'hospitalisation (n'étaient ni présentes ni en incubation au moment de la admission à l'hôpital) qui surviennent cliniquement 48heures après l'admission. (Habzi et Benomar, 2001); Jenkins, 2021). Les agents généralement impliqués dans les infections nosocomiales comprennent *Streptococcus spp.*, *Acinetobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*. (Hassan *et al.*, 2015)

➤ **Transmission endogène**

Le patient est infecté par ses propres microorganismes, par un acte invasif et/ou cause d'une fragilité particulière.

➤ **Transmission exogène**

Les infections croisées transmises d'un patient à un autre par les mains ou les instruments de travail du personnel médical ou paramédical, infections causées par des microorganismes véhiculés par le personnel et les infections liées à la contamination du milieu hospitalier (eau, air, équipement, nourriture...). (Marty et Malavaud, 2002)

1.4. Résistance bactérienne

Une bactérie est considérée comme « résistante » lorsqu'elle présente une concentration minimale inhibitrice (CMI) supérieure à celle qui est nécessaire pour inhiber le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. (Carle, 2010)

1.4.1. Résistance naturelle

La résistance intrinsèque (naturelle) est présente dans toutes les bactéries appartenant à la même espèce ou au même genre bactérien. Elle définit la gamme d'action des antibiotiques. Par exemple, la présence d'une membrane externe chez les bacilles à Gram négatif entraîne une résistance à plusieurs classes de molécules en raison de leur imperméabilité (glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, etc). (Courvalin, 2008)

1.4.2. Résistance acquise

Elle est due à des changements dans le profil d'expression génique via des mutations ponctuelles ou acquises. Ce processus permet aux bactéries de partager des informations génétiques entre elles, ce qui leur confère un grand pouvoir d'adaptation aux milieux environnementaux qu'elles habitent. (Bouyahya *et al.*, 2017)

Chapitre 2

Huiles essentielles

2.1. Généralités

Le terme «huile essentielle» a été créé au XVI^e siècle par le docteur suisse Parascelsus Von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel (Lamamra, 2018). La norme AFNOR NF T 75-006 définit les huiles essentielles, communément appelées essences, comme des produit obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur d'eau des végétaux ou parties de végétaux, ou par expression du péricarpe frais de certains citrus, elles sont très volatiles et ayant une valeur olfactive et gustative fortement aromatique.(Duval, 1981 ; Randrianarivelo, 2010)

2.2. Propriétés physiques

- Ce sont des liquides à la température ordinaire.
- Volatiles, odorant.
- Généralement incolores ou jaune pale.
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1.
- Peu soluble dans l'eau, solubles dans l'alcool et solvant organique.(Boughendjioua, 2015)

2.3. Répartition et localisation

Les huiles essentielles ne se trouvent pas dans toutes les plantes. En effet parmi les 150000 espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles groupent, en particulier Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées,...etc. (Lamamra, 2017)

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus...) et bien que cela soit moins habituel, dans les écorces (cannelier), le bois (bois de rose), des racines (vétiver), des rhizomes (gingembre), des fruits (badiane), des graines (muscade). (Jean, 2009)

A noter que pour une même espèce, la composition de l'essence peut varier selon l'organe et les conditions environnementales. Les huiles essentielles sont assez élevées dans les climats chauds. Quantitativement, la teneur en huiles essentielles est assez faible, généralement inférieure à 1 %. (Boughendjioua, 2015)

2.4. Composition chimique

Les huiles essentielles se composent de deux groupes distincts de composés odorants en fonction de la voie métabolique utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Figure 2**).

- **Les monoterpènes**

Les monoterpènes sont les constituants les plus simples des terpènes, dont la plupart sont présents dans les huiles essentielles (90 %). Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques.

- **Les sesquiterpènes**

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurelles, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature.

- **Les composés aromatiques**

A l'inverse des dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins courants dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyles et de propénylphénols. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important parce qu'ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Par exemple (l'eugénol qui est responsable de l'odeur de clou de girofle). (Bakchiche, 2015)

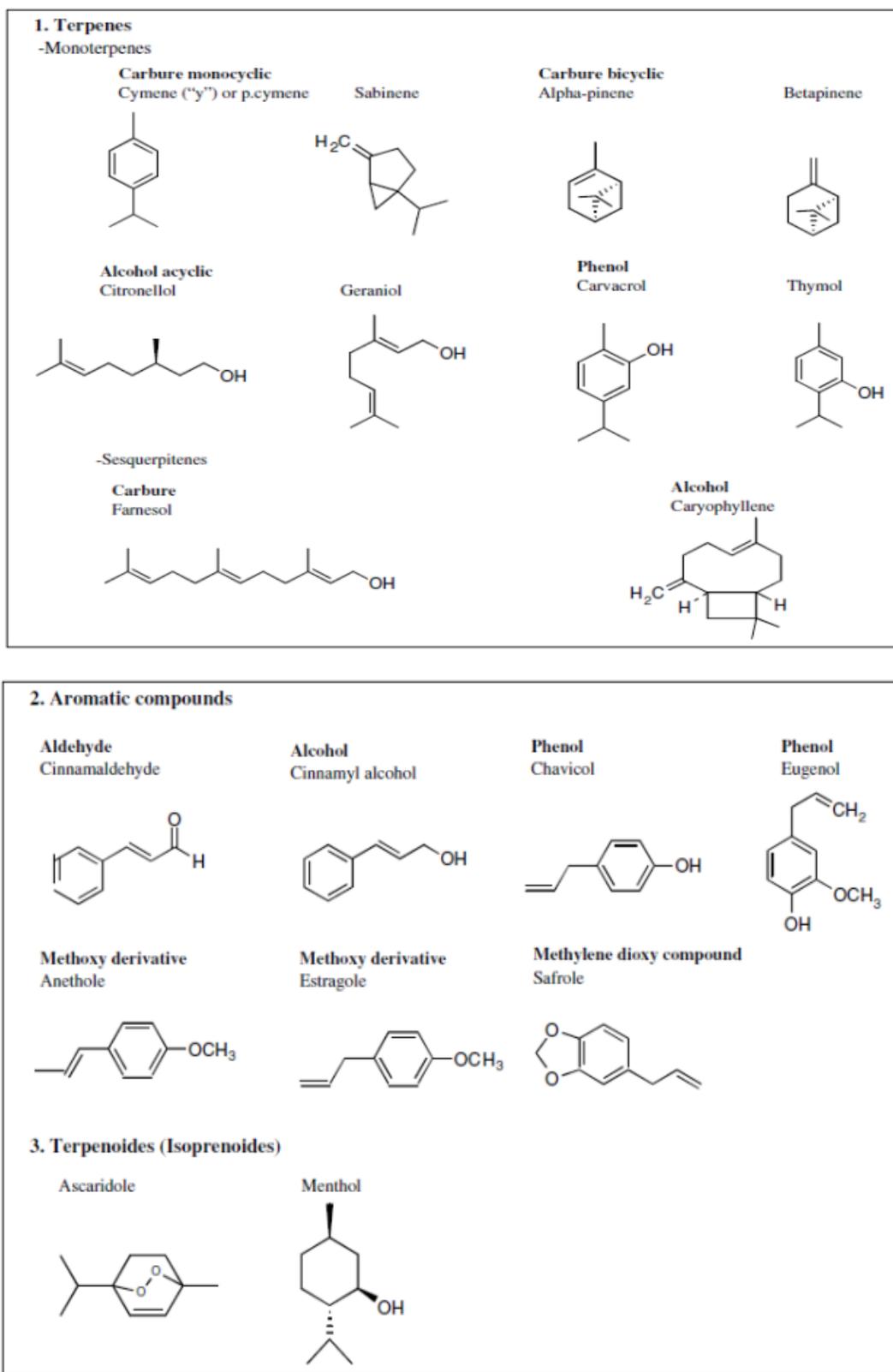


Figure 2. Structure chimique de quelques composés d'huiles essentielles.

2.5. Activité antimicrobienne

2.5.1. Activité antibactérienne

Les plantes aromatiques appartenant à la famille des Labiées, telles que l'origan, le thym, la sauge, le romarin et le clou de girofle, sont parmi les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes en raison de leurs richesses en huiles essentielles. Ces huiles essentielles sont riches en composés phénoliques tels que l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés ont une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous.

Le thymol et l'eugénol ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* ... etc. (Boughendjioua, 2015)

2.5.2. Activité antifongique

En général, les champignons sont plus sensibles à l'action des huiles essentielles que les bactéries. Les huiles essentielles agissent sur la biomasse et la formation de pseudomycélium chez la levure et inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium et la toxicogénèse chez les champignons.(Abdelli, 2017)

2.5.3. Mode d'action des huiles essentielles

Des nombreuses études ont montré que la plupart des huiles essentielles ciblent spécifiquement les membranes cytoplasmiques des microorganismes. (Kalemba et Kunicka, 2003). Le mode d'action des huiles essentielles dépend principalement de la nature et des propriétés des composants actifs, notamment de leurs propriétés hydrophobes, Le thymol et le carvacrol agissent sur la perturbation de la fraction lipidique de la membrane plasmique des bactéries, qui leur permettent de pénétrer la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne. Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides. Le mode d'action des huiles essentielles dépend également du type de microorganismes, car les bactéries Gram négatives sont généralement plus résistantes que les bactéries Gram positives en raison de la structure plus complexe de leur membrane externe.(El Amri *et al.*, 2014)

Partie

Expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

Ce projet a été réalisé dans le cadre de la rédaction d'un mémoire de Master en Microbiologie Appliquée au laboratoire pédagogique du Département des sciences de la Nature et de la Vie de l'université Mohammed Kheider Biskra.

3.1. Matériel végétal

Les plantes médicinales étudiées dans ce travail ont été récoltées à partir de différentes localités dans la région de BISKRA. Seulement les parties aériennes de la plante (tiges, feuilles et fleurs) ont été utilisés. La systématique des plantes sélectionnées sont présentées dans l'**annexe1**.

3.2. Extraction des huiles essentielles

L'obtention des huiles essentielles a été effectuée en utilisant la méthode de distillation par entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un montage de type Clevenger (**Figure 3**). La matière végétale, préalablement pesée, est introduite à l'intérieur d'une ampoule qui est soutenue par un filtre stérile. Un ballon contenant 1 litre d'eau distillée est placé dans un chauffe-ballon. La vapeur qui sort du ballon traverse la matière végétale, et entraîne avec elle les huiles essentielles. Le mélange de vapeur d'eau et les huiles sont acheminés jusqu'à un condenseur où il subit un refroidissement et une condensation. Les gouttelettes obtenues sont collectées dans une burette où l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat en raison de leur différence de densité. La durée de l'extraction est estimée à trois heures, jusqu'à obtenir un volume constant d'huile essentielle.

3.3. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont conservées dans des flacons fumés, dans un endroit frais à une température de 4°C. (Benbelaid, 2015)

3.4. Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse chimique des HEs est réalisée en utilisant un appareil de chromatographie en phase gazeuse dotée d'un détecteur à ionisation de flamme (CG/FID) et un appareil de chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG/SM).

C'est une technique analytique puissante utilisée pour séparer, identifier et quantifier les composés d'un mélange complexe.



Figure 3.Appareil d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau de type Clevenger (photo originale).

3.5. Souches bactériennes étudiées

Cinq souches bactériennes ont été sélectionnées pour ce travail, (2 espèces à Gram positif et 3 espèces à Gram négatif).

3.5.1. Souches d'origine clinique

Tableau 1. Liste de souches bactériennes (d'origine clinique) testées.

Espèces	Forme	Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci	(+)
<i>Escherichia coli</i>	Bacille	(-)

3.5.2. Souches de référence

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

Tableau 2. Liste de souches référence étudiées.

Souches bactériennes	Forme	Gram
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Bacille	(-)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	Bacille	(-)
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 11774	Bacille	(+)

3.6. Activité antibactérienne des huiles essentielles

L'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées a été évaluée à l'aide de deux méthodes standardisées, à savoir :

- La méthode de diffusion sur gélose « Aromatogramme »
- La méthode de microdilution en milieu liquide pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice de la croissance « CMI ».

3.6.1. Méthode de diffusion sur gélose « Aromatogramme »

C'est une méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles *in vitro*. Cet examen est similaire à un antibiogramme sauf que les antibiotiques sont remplacés par des huiles essentielles préalablement sélectionnées et reconnues. (Da silva, 2010)

- **Préparation de la suspension bactérienne**

Deux colonies de chaque bactérie ont été prélevées et placées dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Après agitation, l'inoculum a été ajusté pour atteindre une turbidité

standard de 0,5 McFarland. Cela a été réalisé en ajoutant soit un colonie, soit en diluant avec de l'eau physiologique stérile, afin d'obtenir une densité optique de 0,08 à 0,13 à une longueur d'onde de 625 nm. La concentration finale de l'inoculum est approximativement de l'ordre de 10^8 UFC/ml. (Khrich *et al.*, 2017)

- **Protocol**

La suspension bactérienne préparée à l'avance est utilisée pour ensemercer des boîtes de gélose Mueller-Hinton par écouvillonnage, afin d'obtenir un tapis bactérien uniforme. Ensuite, des disques en papier Whatman (numéro 03) de 6 mm de diamètre préalablement imprégnés avec 5 μ L de l'huile essentielle sont déposés à la surface de la gélose pré-ensemencée (**Figure 4**). Les boîtes sont ensuite incubées à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (en mm). Les résultats sont ensuite interprétés en fonction de quatre 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)

3.6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI »

La méthode de microdilution en utilisant des microplaques de 96 puits a été utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). (Aouni *et al.*, 2013)

- **Préparation de la suspension bactérienne :**

L'inoculum est préparé à partir de la suspension standardisée à 10^8 UFC/ml dilué au 1/100 (9900 μ L de bouillon BHIB stérile avec 100 μ L de la suspension standardisée à 10^8 UFC/ml) pour avoir une concentration $\simeq 10^6$ UFC/ml.

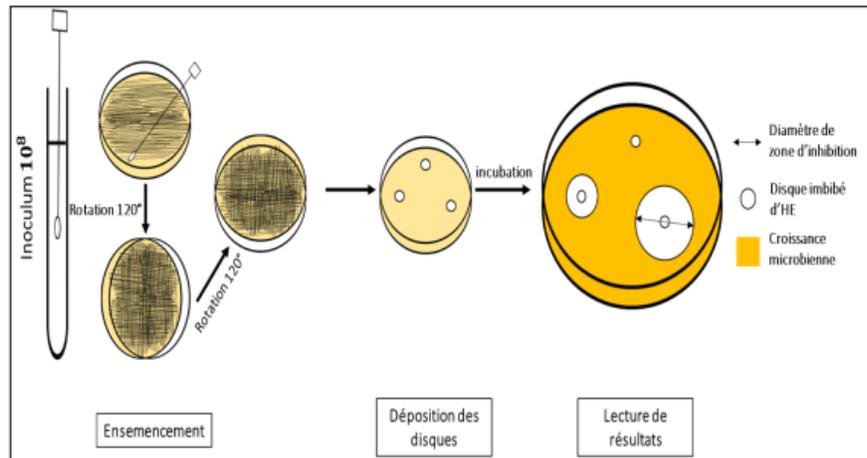


Figure 4. Protocol d'aromatogramme.

- **Protocol**

Chaque huile essentielle a été diluée dix fois à partir de la solution mère (400 μL d'HE avec 10 μL de tween 80 et 590 μL de BHIB) par des dilutions $\frac{1}{2}$ successives. Une solution de dilution a été préparée (mélange de 9900 μL de bouillon BHIB et 100 μL de tween 80 à 1%. Un volume de 500 μL de solution de dilution a été ajouté 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 (**Figure 5**).

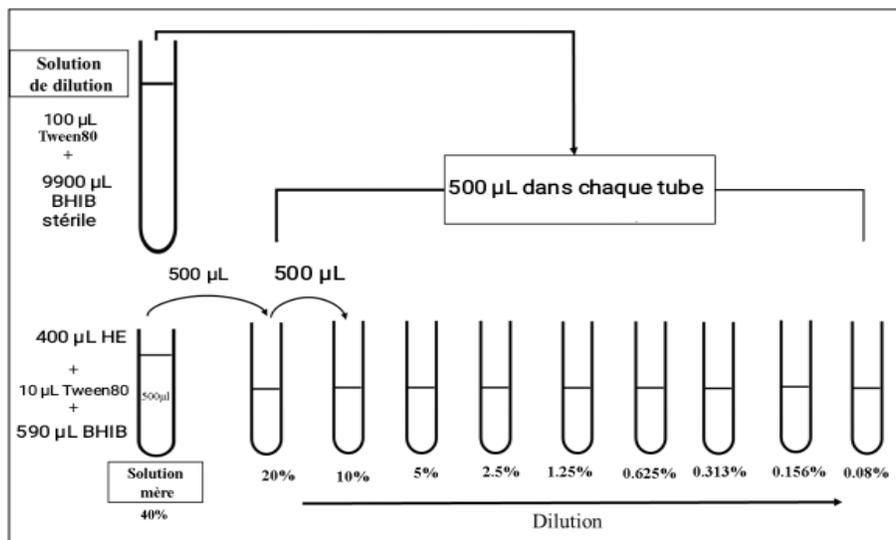


Figure 5. Préparation des dilutions des huiles essentielles.

Après, dix microplaques sont employées (deux microplaques pour chaque HE) dans lesquelles 90 μL de suspension bactérienne de $10^6\text{UFC}/\text{mL}$ est déposée avec 10 μL de chaque concentration (deux rongée des puits pour chaque souche). Ainsi, les concentrations des huiles essentielles dans la microplaque sont comprises entre 4% et 0.008% (**Figure 6**). Après incubation des microplaques à 37°C pendant 24h, la CMI est définie comme la plus faible concentration d'huile essentielle qui empêche toute croissance bactérienne visible (absence de turbidité). (Djenane *et al.*, 2011). L'onzième puit est rempli par 100 μL de la suspension bactérienne comme témoin positif, et le douzième puit est rempli par 100 μL de bouillon stérile comme témoin négative pour vérifier la contamination.

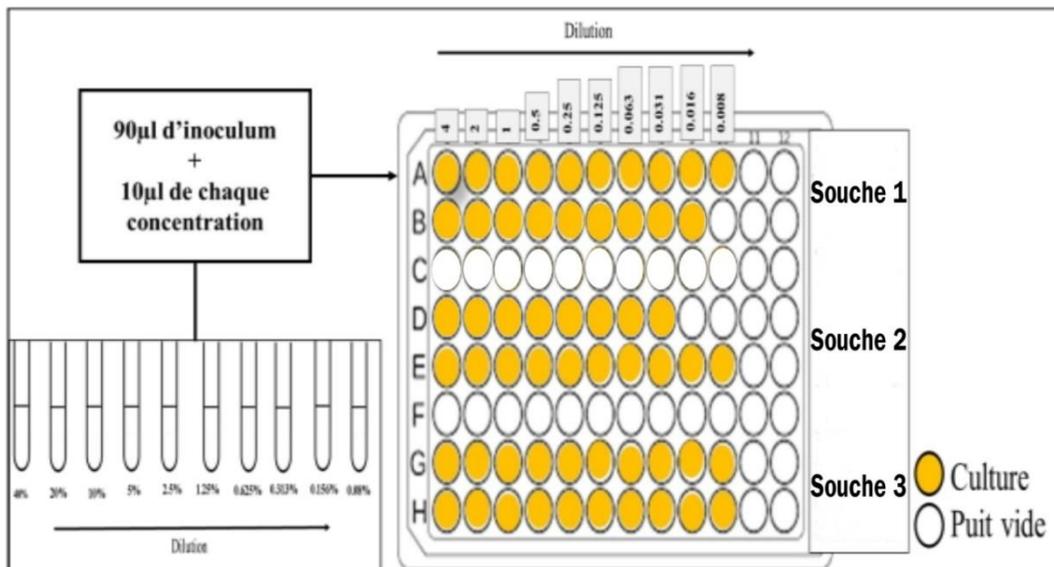


Figure 6. Préparation de la microplaque.

Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1. Rendements en huiles essentielles

(**Tableau 3**), récapitule le rendement des huiles essentielles des plantes étudiées en pourcentage (%), qui est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse végétale sèche traitée : $R = P_1 \cdot 100 / P_0$

R : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage (%).

P_1 : poids en (g) d'HE.

P_0 : poids en (g) de la matière végétale sèche traitée. (Bendif, 2017)

Tableau 3. Rendement en huiles essentielles et la durée d'extraction.

Espèces	Rendement	Durée (h)
<i>T. fontanesii</i>	2,00	3h
<i>A. herba alba</i>	1,77	3h
<i>A. verticillata</i>	1,42	3h
<i>S. officinalis</i>	0,72	3h
<i>R. eriocalyx</i>	0,55	3h

D'après le tableau ci-dessus, on remarque que les rendements en huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau sont variables. L'espèce *T. fontanesii* est la plante aromatique qui présente la teneur la plus importante (2%), alors que les espèces *A. herba alba* et *A. verticillata* ont donné un rendement acceptable (1,77% et 1,42% successivement). Par contre, les espèces *S. officinalis* et *R. eriocalyx* sont avérées moins riches en huiles essentielles (0,72 % et 0,55% respectivement).

La comparaison de nos résultats obtenus avec ceux de la bibliographie, (**Tableau 04**) nous montre que Haddouchi *et al.* (2009) ont trouvé un rendement en HE de l'espèce *T. fontanesii* similaire à le nôtre, alors que les résultats de Dob *et al.* (2008) semblent différents avec un rendement remarquablement faible pour la même espèce. D'autre part, nous avons noté que les

rendements obtenus par Benkherara *et al.* (2015) et Benkherara *et al.* (2011) pour l'espèce *S. officinalis* sont nettement plus élevés que les nôtres. Quant à l'espèce *A. herba alba*, Touil et Benrebiha (2012) ont rapporté une teneur de 0,7% qui est très faible par rapport à nos résultats. Cependant, Ghanmi (2010) ont cité un rendement proche de le nôtre. Pour ce qui est de l'espèce *R. eriocalyx*, il est notable que notre rendement 0,55% est très faible en comparaison avec Zouaouia *et al.* (2022) et Benbelaid *et al.* (2016), 1% et 1,9 %, respectivement. Pour l'HE de *A. verticillata*, nous avons constaté que notre rendement est très proche que celui obtenus par Benbelaid, (2015), mais légèrement inférieur à celui de Khadir, (2013).

Tableau 4. Comparaison des rendements en huiles essentielles des plantes étudiées avec d'autres travaux.

Espèce	Rendement %	Références
<i>A. verticillata</i>	1,42	<u>Nous-mêmes</u>
	2,70	(Khadir, 2013)
	1,35	(Benbelaid, 2015)
<i>R. eriocalyx</i>	0,55	<u>Nous-mêmes</u>
	1,00	(Zouaouia <i>et al.</i> , 2022)
	1,90	(Benbelaid <i>et al.</i> , 2016)
<i>T. fontanesii</i>	2,00	<u>Nous-mêmes</u>
	2,00	(Haddouchi <i>et al.</i> , 2009)
	0,90	(Dob <i>et al.</i> , 2008)
<i>S. officinale</i>	0,72	<u>Nous-mêmes</u>
	1,52	(Benkherara <i>et al.</i> , 2015)
	1,32	(Benkherara <i>et al.</i> , 2011)
<i>A. herba alba</i>	1,77	<u>Nous-mêmes</u>
	1,23	(Ghanmi, 2010)
	0,70	(Touil et Benrebiha, 2012)

Les rendements en huiles essentielles varient en fonction de divers facteurs, notamment l'espèce, l'âge de la plante, la partie de la plante utilisée, l'état du matériel végétal au moment de l'utilisation, la période de récolte, l'origine géographique (effet du milieu), le procédé d'extraction et la durée de distillation. (Khadir, 2013).

4.2. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles déterminée par (CG/FID et CG/SM) est présentée dans le (Tableau 5).

Tableau 5.Composition chimique des huiles essentielles étudiées.

#	Component	Nri	pRI	TF	AV	AHA	SO	RE	ID
1	Tricylene	921	1020					1	RI, MS
2	<i>alpha</i> -Thujene	922	1023	1	1				RI, MS
3	<i>alpha</i> -Pinene	931	1022	4			1	13	RI, MS
4	Camphene	943	1066	1				13	RI, MS
5	Sabinene	964	1120				2		RI, MS
6	<i>beta</i> -Pinene	970	1110	1			18	10	RI, MS
7	Myrcene	979	1159	2			3	1	RI, MS
8	<i>alpha</i> -Phellandrene	997	1164			1	1		RI, MS
9	<i>alpha</i> -Terpinene	1008	1178	2				2	RI, MS
10	<i>para</i> -Cymene	1011	1268	15	17	1	8	3	RI, MS
11	Limonene	1020	1199		11		8		RI, MS
12	1,8-Cineole	1020	1209			3		15	RI, MS
13	<i>beta</i> -phellandrene	1023	1209	1		1			RI, MS
14	<i>gamma</i> -Terpinene	1047	1243	12			1	2	RI, MS
15	(<i>Z</i>)-Sabinene hydrate	1051	1451	1					RI, MS
16	Nonanal	1076	1343				1		RI, MS
17	Linalool	1081	1544	2					RI, MS
18	Filifolone	1083	1399			1			RI, MS
19	(<i>E</i>)-Sabinene hydrate	1086	1541				1		RI, MS
20	<i>alpha</i> -Thujone	1097	1395			21			RI, MS
21	<i>beta</i> -Thujone	1103	1422			6			RI, MS
22	Chrysanthenone	1105	1500			14			RI, MS
23	(<i>E</i>)- <i>para</i> -Menth-2-en-1-ol	1108	1592			1			RI, MS
24	Camphor	1123	1517			2	1	15	RI, MS
25	Sabina ketone	1132	1618						RI, MS
26	Pinocarvone	1136	1558					1	RI, MS
27	Borneol	1148	1698	4		1		2	RI, MS
28	Terpinen-4-ol	1161	1600					2	RI, MS
29	<i>alpha</i> -Terpineol	1179	1700					1	RI, MS
30	Decanal	1180	1498				3		RI, MS

31	Thymylmethyloxyde	1215	1586			7		RI, MS
32	(E)-Piperitone oxyde	1232	1722			2		RI, MS
33	Carvacrolmethylether	1231	1603	1				RI, MS
34	(E)- Chrysanthenylacetate	1253	1564			5		RI, MS
35	Thymol	1266	2189	36	56	11		RI, MS
36	Bornylacetate	1268	1574			1	1	RI, MS
37	Isoascaridole	1277	1845			9		RI, MS
38	Carvacrol	1278	2219	10	9	1		RI, MS
39	Chrysanthenoneepoxyde	1280	1954			1		RI, MS
40	alpha-Cubebene	1355	1426			1		RI, MS
41	(E)-Jasmone	1369	1890			3		RI, MS
42	alpha-Copaene	1379	1457				1	RI, MS
43	(E)-beta-Caryophyllene	1421	1555	2		8	2	RI, MS
44	alpha-Humulene	1455	1687			1	1	RI, MS
45	gamma-Muuroolene	1474	1660				1	RI, MS
46	Davanaether	1474	1908			1		RI, MS
47	beta-Selinene	1475	1706			4		RI, MS
48	Germacrene D	1478	1710			2	3	RI, MS
49	Bicyclogermacrene	1494	1692			1		RI, MS
50	beta-Bisabolene	1500	1720				1	RI, MS
51	gamma-cadinene	1507	1749				1	RI, MS
52	delta-Cadinene	1520	1715	1			1	RI, MS
53	Spathulenol	1560	2119			2		RI, MS
54	Davanone	1570	2035			1		RI, MS
55	Caryophylleneoxyde	1576	1980				2	1
56	Globulol	1589	2070					RI, MS
57	Tau-Cadinol	1632	2169			1		RI, MS
58	alpha-Cadinol	1645	2231			1		RI, MS
59	alpha-Bisabolol	1672	2217				4	RI, MS
60	Manoyloxyde	1996	2308			1		RI, MS
61	Manool	2057	-			1		RI, MS
Totale identifiées (%)				95,7	94,1	82,7	85,39	91,82

TF: *Thymus fontanesii*, **AV:** *Ammoides verticillata*, **AHA:** *Artemisia herba alba*, **SO:** *Salvia officinalis*, **RE:** *Rosmarinus eriocalyx*. **nRI** : indice de rétention apolaire, **pRI**: indice de rétention polaire. **ID**: identification par les spectres de masse et les indices de rétention. Les pourcentages et l'ordre d'éluion des composants sont donnés selon la colonne apolaire. Les indices de rétention nRI et pRI sont donnés respectivement sur des colonnes apolaires (Rtx1) et polaires (Rtx-Wax).

Selon les résultats obtenus, on remarque une importante variabilité chimique entre les huiles étudiées. Lorsqu'on compare la composition chimique des huiles essentielles des espèces étudiées avec celles rapportées dans la littérature (**Tableau6**), on constate une similitude

remarquable. En effet, les huiles essentielles étudiées sont caractérisées par les mêmes composés majoritaires tel que le Thymol, *para*-Cymène et le Limonène à l'exception des deux espèces *A. herba alba* et de *S. officinalis* qui ont constituées par d'autres composés majoritaires à savoir le caryophyllène et l'*alpha*-Thuyone au lieu du *alpha*-Thujone et le *bêta*-pinène, respectivement.

Tableau 6. Comparaison de la composition chimique de nos huiles essentielles avec celle rapportée dans la bibliographie.

Espèces	Composé majoritaire*	%*	Composé majoritaire**	%**	Références
<i>Thymus fontanesii</i>	Thymol	56	Thymol	29	(Dob <i>et al.</i> , 2008)
<i>Ammoides verticillata</i>	Thymol	36	Thymol	52	(Attou <i>et al.</i> , 2017)
<i>Artemisia herba alba</i>	<i>Alpha</i> -Thujone	21	Caryophyllene	49	(Bertella <i>et al.</i> , 2018)
<i>Salvia officinalis</i>	<i>Bêta</i> -pinène	18	<i>Alpha</i> -thuyone	25	(Sassella <i>et al.</i> , 2008)
<i>Rosmarinus eriocalyx</i>	Camphor	15	Camphor	36	(Fadel <i>et al.</i> , 2011)
	1,8-Cineole	15	1,8-Cineole	7	

*: résultat de cette étude. **: résultat rapporté dans d'autres travaux. %: pourcentage du composé.

4.3. Activités antibactériennes des huiles essentielles

4.3.1. Résultats d'aromatogramme

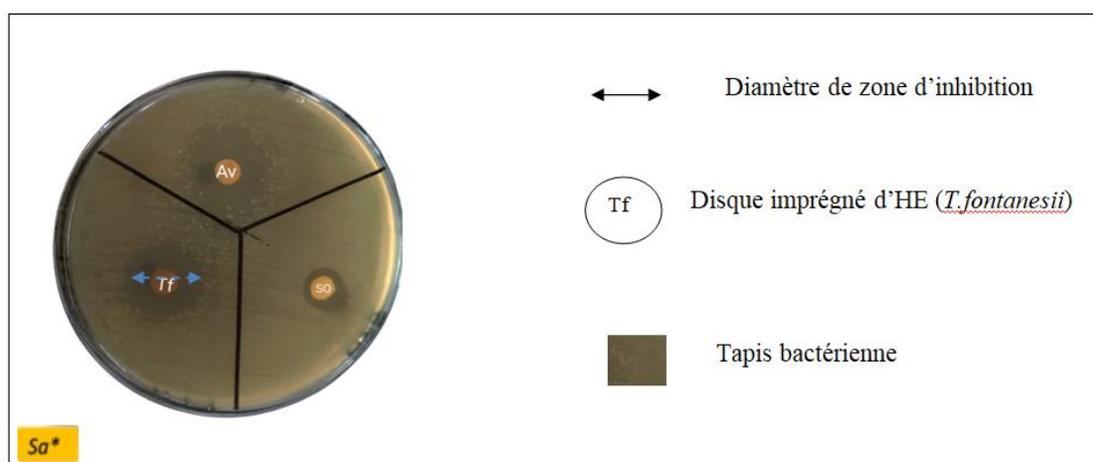
L'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose. (Tableau 7) présentée sous forme des diamètres des zones d'inhibition.

Tableau 7. Résultats des diamètres des zones d'inhibition (en mm).

Microorganismes	AV		RE		TF		SO		AHA	
	Ø	Int	Ø	Int	Ø	Int	Ø	Int	Ø	Int
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	S	24	Es	9	S	28	Es	25	Es
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	Ts	8	R	21	Ts	9	S	7	R
<i>Bacillus subtilis</i>	37	Es	21	Es	32	Es	19	Ts	19	Ts
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	S	12	S	16	Ts	11	S	9	S
<i>Escherichia coli</i>	24	Es	12	S	19	Ts	13	S	8	R

TF: *Thymus fontanesii*, **AV:** *Ammoides verticillata*, **AHA:** *Artemisia herba alba*, **SO:** *Salvia officinalis*, **RE:** *Rosmarinus eriocalyx*. * : souche clinique, **Int** : interprétation, **R** : résistant, **S** : sensible, **Ts** : très sensible, **Es** : Extrêmement sensible, **Ø** : diamètre.

En se basant sur les résultats de l'aromatogramme obtenus, il est constaté que les huiles essentielles de *T.fontanesii* et *A.verticillata* ont une puissante activité contre les souches bactérienne étudiées avec des zones d'inhibition larges jusqu'à 37mm. L'HE de *S. officinalis* a également montré une bonne efficacité antibactérienne sur deux souches bactériennes à savoir *P.aeruginosa* et *B.subtilis* traduit par des zones de 19-28 mm. Cependant, les zones d'inhibition formées par l'huile de la *R.eriocalyx* étaient réduites (8-24 mm), signifiant une activité modeste. Tandis que L'HE d'*A.herba alba* est la moins efficace par rapport aux autres huiles essentielles étudiées.

**Figure 7.** Diamètre des zones d'inhibition formée par les huiles essentielles étudiées.

Av: *A. verticillata*, So : *S. officinalis*, Tf : *T.fontanesii* vis-à-vis l'espèce *S. aureus* clinique.

Si on compare les résultats des zones d'inhibition pour l'HE de *T.fontanesii* avec ceux obtenus par Haddouchi et Benmansour (2008), Dob *et al.* (2008) et Bekhechi *et al.* (2007), on trouve une similarité entre les zones d'inhibition. Même constate pour les résultats de l'HE de l'*A.herba alba* étudiée par Younsi *et al.* (2016) et Charchari (1994) et Mouchem (2015). Cependant pour l'HE d'*A.verticillata*, Attou *et al.* (2017), ont trouvé des diamètres d'inhibition similaires vis-à-vis *E.coli* et *K.pneumoniae* mais différents envers *P.aeruginosa* et *S. aureus*. Concernant l'HE de *S. officinalis*, Abdellah *et al.* (2015) ont obtenu des résultats semblables vis-à-vis toutes les souches étudiées à l'exception de *P. aeruginosa*. Néanmoins, l'activité antibactérienne de l'HE de *R.riocalyx* semble différente notamment envers *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *E.coli* et *K. pneumoniae*. en comparant avec les résultats de Benbelaid *et al.* (2016) et Tahri *et al.* (2015).

4.3.2. CMI de la croissance bactérienne

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles étudiées a été réalisée en utilisant la méthode des dilutions en milieu liquide. Cette méthode quantitative permet de déterminer l'intervalle de concentrations qui inhibent efficacement la croissance bactérienne. Les résultats obtenus sont présentés dans le (**Tableau 8**).

Tableau 8. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la croissance (%).

Souche	Concentration minimale inhibitrice				
	TF	AHA	AV	RE	SO
<i>S.aureus</i>	0,5	1	1	/	2
<i>E.coli</i>	0,25	0,5	0,5	4	1
<i>P.aeruginosa</i>	1	1	1	0,5	1
<i>K.pneumoniae</i>	1	2	1	1	2
<i>B.subtilis</i>	0,25	0,5	0,5	0,5	2

En ce qui concerne les CMI obtenues, l'huile de *T.fontanesiia* montrée un large spectre d'activité envers toutes les souches étudiées par rapport aux autres huiles essentielles, avec des faibles CMI (0,25%). Les autres huiles essentielles *A.herba alba* et *A.verticillata* ont été également actives envers *B.subtilis* et *E.coli* avec une CMI égale à 0,5%. En revanche, les autres huiles essentielles se sont révélées moins efficaces.

Selon Dob *et al.* (2008), la CMI de HE de *T.fontanesii* envers *P.aeruginosa* était égale à 1%, ce qui est identique à celui que nous avons trouvé, mais les CMI pour les autres souches étudiées sont révélées différentes. D'autres dissemblances des résultats sont constatées par Attou *et al.* (2017) qui ont trouvé l'HE d'*A.verticillata* plus active (CMI entre 0,78% et 1,56%) par rapport aux nôtres (CMI entre 0,5 et 1%). D'après Benbelaid *et al.* (2016), l'HE de *R.eriocalyx* a montré une forte activité antibactérienne contre *B.subtilis*, *S.aureus* avec des CMI (0,125% ; 0,063% respectivement), ces valeurs sont significativement élevées par rapport aux nôtres. L'HE de *S. officinalis* étudiée par Adrar *et al.* (2015) était de la même activité antimicrobienne (1,5% et 0,75% respectivement) que l'HE de notre région. Tandis que les CMI obtenus par Ben Khedher *et al.* (2017) était inférieure révélant une activité moins efficace mise à part *E. coli*.

Conclusion

Conclusion

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antibactérienne de cinq plantes médicinales locales à savoir *Thymus fontanesii*, *Salvia officinalis*, *Artemisia herba alba*, *Rosmarinus eriocalyx* et *Ammoides verticillata* vis-à-vis deux bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) et trois à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*).

La méthode de distillation par entraînement à la vapeur d'eau de la partie aérienne des plantes étudiées nous a permis d'obtenir des huiles essentielles avec des rendements variables entre les espèces. Nous avons trouvé que l'espèce *T.fontanesii* est la plante aromatique ayant la teneur la plus importante (2%) en huiles essentielles, alors que les espèces *A.herba alba* et *A. verticillata* ont donné un rendement acceptable (1,77% et 1,42%, successivement). Tandis que les espèces *S.officinale* et *R.eriocalyx* ont donné les rendements les plus faibles (0,72% et 0,547%, respectivement).

En ce qui concerne la composition chimique des huiles essentielles étudiées, nous avons remarqué que le Thymol est le composé majoritaire dans plusieurs plantes à savoir le *T. fontanesii* et l'*A.verticillata*. Alors que l'HE d'*A.herba alba* est constituée principalement par l'alpha-Thujone. En fin, nous avons identifié le *bêta-pinène* et le *Camphor* dans les huiles essentielles de *S.officinal* et *R.eriocalyx*, respectivement.

L'évaluation de l'activité antibactérienne à l'aide de la méthode d'aromatogramme nous a montré que le *T.fontanesii* et l'*A.verticillata* ont une bonne activité antibactérienne contre toutes souches étudiées avec formation des zones d'inhibition larges allant jusqu'à 37 mm. L'HE de *S. officinalis* a également montré une bonne efficacité antibactérienne sur deux souches bactériennes à savoir *P.aeruginosa* et *B.subtilis* traduit par des zones de 19-28 mm. Cependant, les résultats obtenus pour l'huile essentielle de *R.eriocalyx* ont montré des zones d'inhibition réduites, allant de 8 à 24 mm, ce qui indique une activité modeste. En revanche, l'HE d'*A.herba alba* s'est avéré moins efficace que les autres huiles essentielles, avec seulement un diamètre de 7 mm envers *S. aureus*.

La détermination des CMI des huiles essentielles étudiées a été réalisée en utilisant la méthode des dilutions en milieu liquide. Cette méthode permet de confirmer les résultats de l'aromatogramme. Les résultats de CMI obtenus ont montré que l'HE la plus active est celle de *T.fontanesii*, avec des valeurs de CMI relativement faibles (0,25%). L'huile d'*A.herba alba* et l'*A.verticillata* sont également actives vis-à-vis *B.subtilis* et *E.coli* avec un CMI égale à 0,5%. En revanche, les autres huiles essentielles se sont révélées moins efficaces.

En conclusion, cette approche ouvre la voie à de nouvelles perspectives dans l'utilisation des plantes médicinales et de leurs huiles essentielles comme alternatives aux antibiotiques. Cependant, des travaux et études supplémentaires et approfondies sont toutefois nécessaires pour confirmer leur efficacité, ainsi pour vérifier leur sécurité et leur potentiel thérapeutique. Cela pourrait éventuellement conduire au développement de nouveaux médicaments ou compléments naturels pour le traitement des infections bactériennes.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

Abdellah F., Mattazi N., Mouhcine F., Chraïbi M., Fikri Benbrahim K. 2015. Essential oils analysis and antibacterial activity of the leaves of *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* and *Mentha piperita* cultivated in agadir (morocco). Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 7(9):73-79.

Abdelli W. 2017. Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat en Microbiologie Appliquée, université de Abdelhamid ibn Badis, Mostaganem, p. 44.

Adrar N., Oukil N., Bedjou F., Adrar, N. 2015. Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. Ind. Crops Prod. 88:112-119.

Aouni M., Pelen F., Soulimani R. 2013. Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. Phytothérapie 11:225-236.

Attou A., Davenne D., Benmansour A., Lazouni H.A. 2017. Chemical Composition and Biological Activities of *Ammoides verticillata* Essential Oil from West Algeria. Phytothérapie 17(1):2-8.

Barchan A., Bakkali M., Arakrak A., Laglaoui A. 2016. Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de Mentha : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. Phytothérapie 14(2):p. 1.

Bakchiche B. 2015. Contribution à la valorisation des extraits phénoliques et des huiles essentielles de quelques plantes médicinales locales. Thèse de doctorat en Chimie, université Amar Telidji -Laghouat, p. 42.

Bekhechi C., Bekkara F. A., Abdelouahid D. E., Tomi F., Casanova J. 2007. Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii* Boiss. Et Reut. From Algeria. Journal of Essential Oil Research 19(6):594-596.

Benbelaid F. 2015. Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire. Thèse de doctorat en Microbiologie, université Aboubekr Belkaid, Telemcen, p. 30.

Benbelaid F., Khadir A., Bendahou M., Zenati F., Bellahsene C., Muselli A., Costa J. Antimicrobial activity of *Rosmarinus eriocalyx* essential oil and polyphenols: An endemic medicinal plant from Algeria. Journal of Coastal Life Medicine 4(1):39-44.

Bendif H. 2017. Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques Lamiaceae : *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thèse de doctorat en Sciences biologiques, L'école normale supérieure de kouba, Alger, 145 p.

Benkhedher M.F., Benkhedher S., Chaieb I., Tounsi S., Hammami M. 2017. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from tunisia. Excli Journal 16:160-173.

Benkherara S., Bordjiba O., Djahra A. B. 2011. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. Revue Synthèse (23):72-80.

Benkherara S., Bordjiba O., Djahra, A. B. 2015. Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. Phytothérapie 13(1):14-18.

Bertellaa A., Benlahcena K., Abouamamaa S., Pintob D. C. G. A., Maamara K., Kihala M., Silvab A. M. S. 2018. *Artemisia herba-alba* Asso. essential oil antibacterial activity and acute toxicity. Industrial Crops & Products 116:137–143.

Boughendjioua H. 2015. Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobiennne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse de doctorat en biologie, université Badji-Mokhtar, Annaba, p. 188.

Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Talbaoui A., Khouchlaa A., Charfi S., Abrini J., Dakka N. 2017. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. Phytothérapie, p. 2.

Carle S. 2010. La résistance aux antibiotiques : Un enjeu de santé publique important. Pharmactuel 42(2): p. 7.

Chaib R. 2020. Les risques liés aux agresseurs biologiques. Journal article (14): pp. 5-7.

Charchari S. 1994. Contribution à la connaissance de l'huile essentielle de deux espèces d'Artemisia: *A. herba-alba* Asso. et *A. judaïca* L. aspects technologiques de l'extraction de cette huile et de leur concrète. Thèse de doctorat en génie chimique. Ecole Nationale Polytechnique, Alger, p. 45.

Courvalin P. 2008. La résistance des bactéries aux antibiotiques : Combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France 161(1):7-12.

Da Silva F., 2010. Utilisation des huiles essentielles en infectiologie orl. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1, p. 25.

Deschepper R. 2017. Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat en Pharmacie, université d'Aix, Marseille, p. 149.

Desenclos J. C., De Valk H. 2005. Les maladies infectieuses émergentes : Importance en santé publique, aspects épidémiologiques, déterminants et prévention. *Médecine et Maladies Infectieuses* 35(2):49-61.

Djenane D., Yangüela J., Amrouche T., Boubrit S., Boussad N., Roncalés P. 2011. Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *Food Science and Technology International* 17(6):505–515.

Dob T., Dahmane D., Benabdelkader T., Chelghoum C. 2006. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii*. *Pharmaceutical Biology* 44(8):607–612.

Duval L. 2012. Les Huiles Essentielles à l'officine. Thèse de doctorat en Pharmacie, université de médecine et de pharmacie de ROUEN, p. 154.

El Amri J., Elbadaoui K., Zair T., Bouharb H., Chakir S., Alaoui T. 2014. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences* 82(1):7481 p.

Fadel O., Ghazi Z., Mouni L., Benchat N., Ramdani M., Amhamdi H., Wathelet J. P., Asehraou A., Charof R. 2011. Comparison of Microwave-Assisted Hydrodistillation and Traditional Hydrodistillation Methods for the *Rosmarinus eriocalyx* essential oils from Eastern Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.* 2 (2):112-117.

Fontenille D., Lagneau C., Lecollinet S., Robin R. L., Setbon M., Tirel B., Yebakima A. 2009. La lutte antivectorielle en France. IRD Éditions, Marseille, p. 545.

Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Isamili M. R., Houti H., El Monfalouti H., Benchakroun K. H., Aberchane M., Harki L., Boukir L., Chaouch A., Charrouf Z. 2010. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). *Phytothérapie* 8:295–301.

Habzi A., Benomar S. 2001. les infections nosocomiales néonatales. *Journal de pédiatrie et de puériculture* 14(7):424 p.

Haddouchi F., Benmansour A. 2008. Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire* 3(8):20-27.

Haddouchi F., Lazouni H. A., Meziane A., Benmansour A. 2009. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymusfontanesii* Boiss&Reut. *Afrique Science* 5(2):246 - 259.

Hammoudi R. 2015. Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien. Thèse de doctorat en biologie, université Kasdi Merbah, Ourgla, p. 14.

Hassan A. K., Aftab A., Riffat M. 2015. Nosocomial infections and their control strategies. *Asian Pac J Biomed* 5(7):509-514.

Jawerth N. 2020. Les maladies infectieuses. *Bulletin de l'Aiea*, p. 4.

Jean B. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} édition, Lavoisier, Paris, p. 570.

Jenkins D. R. 2021. Nosocomial infections and infection control. *Medicine* 49(10):638-642.

Kalemba D., Kunicka A. 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry* 10(10):813-829.

Kayser F. H., Bienz K. A., Eckert J., Zinkernagel R. M. 2005. *Medical microbiology*. Thieme, pp. 146-348.

Khadir A. 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 en Biologie cellulaire et biochimie, université Abou bekr Belkaid, Tlemcen, p. 73.

Khribch J., Nassik S., El Houadfi M., Zrira S., Oukessou M. 2017. Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 6(3):300-307.

Lamamra M. 2018. Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'*Ammiopsis aristidis* Coss. (Syn. *Daucus aristidis* Coss.) et d'*Achillea santolinoides* Lag. Thèse de doctorat en biologie végétale, Université Ferhat Abbas, Sétif 1, p. 13.

Le Faou A. 2012. *Virologie humaine*. Pradel, France, p. 420.

Maghni B. 2017. Etude de la variabilité génétique chez l'armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso) dans différents étages bioclimatiques et sa relation avec la répartition et l'adaptation de l'espèce. Thèse de doctorat en Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun -Tiaret, p. 6.

Marty N., Malavaud S. 2002. Epidemiology of nosocomial infections after cataract surgery and role of the Infection Control Committee in prevention. *Bulletin de l'Academie nationale de medecine* 186(3):635-645.

Mouchem M. F. Z. 2015. Contribution à l'étude des huiles essentielles de l'armoise blanche de trois localités de l'ouest Algérien (Ras Elma, El Aricha et Mécheria) et leurs

effets antimicrobiens. Thèse de doctorat en sciences, université Djillali Liabes, Sidi bel Abbes, 113 p.

Outaleb T. 2016. Extraits de romarin d'Algérie (*Rosmarinus officinalis* L. et *Rosmarinus tournefortii* De Noe): Analyse chimique et activités antioxydantes et antimicrobiennes. Thèse de doctorat en science agronomique Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie-El Harrach, Alger, p. 6.

Randrianarivelo R. 2010. Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « *Cinnamosma fragrans* », alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Thèse de doctorat en Biochimie, université d'Antananarivo, p. 20.

Sassella A., Depiazza D., Pedrolì M., Conti A., Rey C. 2008. Comparaison de quatre variétés de *sauge officinale* au Tessin. Revue Suisse de viticulture arboriculture horticulture 40(2): p. 103.

Sid Ali L. 2019. Etude de l'extraction et de la valorisation des huiles essentielles de plantes endémiques Algériennes : espèces *Thymus fontanesii*. Thèse de doctorat en génie des Procédés, université Djilali Bounaama Khemis Miliana, p. 4.

Tahri M., Imelouane M., Amhamdi H., Fauconnier M. L., Elbachiri A. 2015. The Chemical compositions and the Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil of Rosemary Leaves from Eastern Morocco. J. Mater. Environ. Sci. 6(3):666-672.

Tefiani C. 2015. Les propriétés biologiques des huiles essentielles de *Curcuma longa*, *Ammoides verticillata* et *Thymus ciliatus* ssp. *eu-ciliatus*. Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques, université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, pp. 10-11.

Touil S., Benrebaha F. Z. 2012. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* asso et *Artemisia campestris* L de la region aride de djelfa. Thèse de doctorat en biotechnologie des production végétales, université blida 1, Blida, p. 41.

Volker ter Meulen, 2006. Les maladies infectieuses. De l'importance d'une activité coordonnée à l'échelle européenne. Bull. Acad. Natle Méd. 190(9):1889-1895.

Yamina M., Zohra B. F., Cherifa C. 2017. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin_ *Rosmarinus officinalis*, Revue Agrobiologia 7(1):363-370.

Younsi F., Trimech R., Boulila A., Ezzine O., Dhahri S., Boussaid M., Messaoud C. 2016. Essential Oil and Phenolic Compounds of *Artemisia herba-alba* (Asso): Composition, Antioxidant, Antiacetylcholinesterase, and Antibacterial Activities. International Journal of Food Properties 19(7):1425–1438.

Sites internet :

<https://www.ernest-turc.com/boutique/produits/graines/aromatiques/autres-grainesaromatiques/sauge-officinale/.....> (Site web 1)

https://www.ukwildflowers.com/Web_pages/rosmarinus_ericalyx_rosemary.ht (Site web 2)

Annexes

Annexe 1. Plantes étudiées

1. *Artemisia herba-alba*

Systématique de la plante (Maghni, 2017)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division:	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous-famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
Sous-tribu	Artemisiinae
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia herba alba</i> (Asso)



Figure 8. *Artemisia herba alba*

Appellation

Thym des steppes, absinthe du désert, shih, kaysoūm, izerg, Wormwood. (Maghni, 2017)

2. *Ammoides verticillata*

Systématique de la plante (Tefiani, 2015)

Embranchement	Tracheophyte
Sous Embranchement	Spermatophyte
Classe	Magnoliopside
Sous-classe	Asteridées
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae Lindl.
Genre	<i>Ammoides</i> Adans.
Espèce	<i>Ammoides pusilla</i> (Brot.) Breistr.



Figure 9. *Ammoides pusilla*

Appellation

Nounkha, Nûnkha, Taleb El Koubs , Ajowan .(Tefiani, 2015)

3. *Thymus fontanesii*

Systématique de la plante (Sid ali, 2019)

Règne	Plantes
Sousrègne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Labiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus fontanesii</i>



Figure 10. *Thymus fontanesii*

Appellation

Zaâteur. (Haddouchi *et al.*, 2009)

4. *Rosmarinus eriocalyx*

Systématique de la plante (Outaleb, 2016)

Règne	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus eriocalyx</i>



Figure 11. *Rosmarinus eriocalyx*

Appellation

Le genre *Rosmarinus* est considéré sous les noms vernaculaires arabes de "Klil" "Hassalban"; "Iazir" "Hatssa Louban"; "Iklil el Djebel".(Bendif, 2017)

5. *Salvia officinalis*

Systématique de la plante (Hammoudi, 2015)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèces	<i>Salvia officinalis</i>



Figure 12. *Salvia officinalis*

Appellation

Salvia officinalis.(Hammoudi, 2015)

المخلص

الزيوت الطيارة هي مواد فعالة مستخلصة من النباتات العطرية، تحتوي على تركيبة معقدة من العديد من المركبات الكيميائية، بعضها له خواص مضادة للميكروبات. يمكن استخدام هذه الخواص المضادة للميكروبات لمحاربة الكائنات الدقيقة المسببة للعدوى. في هذه الدراسة، كان هدفاً تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت العطرية التي تم الحصول عليها بواسطة التقطير بالبخار من النباتات الطبية المحلية، وهي (*T.fontanesii*, *A.verticillata*, *S.officinalis*, *A.herba alba*, *R.eriocalyx*).

تم استخدام طريقتين لدراسة النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت العطرية المدروسة: الانتشار على الوسط الصلب، تحديد التراكيز المثبطة للنمو (CMI). أظهرت النتائج أن زيت *T. fontanesii* و *A.verticillata* كانا الأكثر فعالية، مع متوسط مناطق تثبيط تصل إلى 37 ملم وتراكيز حدية مثبطة بنسبة 0.25 % .

بينما أظهرت زيوت *R.eriocalyx*, *A.herba alba*, *S.officinale* فعالية أقل .

الكلمات المفتاحية : النشاط المضاد للبكتيريا، الزيوت الطيارة، *T.fontanesii*, *A.verticillata*, *S.officinale*, *A.herba alba*, *R.eriocalyx*.

Résumé

Les huiles essentielles sont des substances bioactives extraites de plantes aromatiques constituées d'une composition complexe avec de nombreuses molécules, dont certaines sont dotées de propriétés antimicrobiennes. Le potentiel antimicrobien des huiles essentielles peuvent être utilisé pour combattre face aux microorganismes responsables d'infections. Dans cette étude, notre objectif était d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles obtenues par distillation à la vapeur d'eau à partir de plantes médicinales locales, le *T. fontanesii*, la *S.officinalis*, l'*A.herba alba*, le *R.eriocalyx* et l'*A. verticillata*. Deux méthodes ont été testées pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées à savoir la diffusion sur gélose et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle de *T. fontanesii* et d'*A.verticillata* était la plus actives, avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 37 mm et des CMI de 0,25%. En revanche, les huiles essentielles de *S.officinalis*, d'*A.herba alba* et de *R.eriocalyx* se sont révélées moins efficaces.

Mots clés : Activité antibactérienne; Huiles essentielles ; *T.fontanesii* ; *S.officinale*; *A.herba alba* ; *R.eriocalyx* ; *A. verticillata*.

Abstract

Essential oils are bioactive substances obtained from aromatic plants. Essential oils are mainly constituted of a complex composition with numerous molecules, some of which possess antimicrobial properties. These antimicrobial properties can be utilized to combat microorganisms responsible for infections. In this study, our objective was to evaluate the antibacterial activity of essential oils obtained through steam distillation from local medicinal plants, namely *T. fontanesii*, *S. officinalis*, *A. herba alba*, *R. eriocalyx*, and *A. verticillata*. We employed two methods to assess the antibacterial activity of the studied essential oils: agar diffusion and determination of minimum inhibitory concentrations (MIC). The results demonstrated that the essential oil of *T. fontanesii* and *A. verticillata* exhibited the highest activity, with an average inhibition zone of up to 37 mm and MIC values of 0.25%. Conversely, the essential oils of *S. officinale*, *A. herba alba*, and *R. eriocalyx* proved to be less effective.

Keywords: Antibacterial activity; Essential oils; *T. fontanesii*; *S. officinale*; *A. herba alba*; *R. eriocalyx*; *A. verticillata*.