



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences
de la Terre et de l'Univers
Département des Sciences de la Nature et de la Vie
Sciences biologiques

Réf : / 2025

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :

Omari Fatma

Évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Rosmarinus officinalis*

Jury :

Mr	Zeroual Samir	MCA	université de biskra	Président
Mme	Fetiti Nabila	MAA	université de biskra	Rapporteur
Mme	Megdoud Amel	MAA	université de biskra	Examinatrice

Année universitaire : **2024 / 2025**

سورة التوبة

REMERCIEMENTS

Premièrement, nous remercions Allah d'avoir facilité toutes les tâches et de nous avoir permis d'atteindre la fin de ce travail.

" ربي لك الحمد حتى ترضى، ولك الحمد إذا رضيت، ولك الحمد بعد الرضا "

J'exprime mes profonds remerciements à ma promotrice, Dr. Fetiti Nabila, pour avoir accepté de superviser ce travail de fin d'études. Je la remercie pour son aide précieuse, son accompagnement et ses conseils éclairés ont constitué un pilier fondamental tout au long de cette recherche.

Nous désirons aussi remercier les professeurs de de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université mohammed khider de biskra, en particulier ceux de la spécialité Microbiologie Appliquée qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études universitaires.

Mes remerciements les plus chaleureux vont également à l'ensemble des enseignants et au personnel du Département de Biologie de l'Université d'El Oued pour leur soutien durant la phase pratique de ce mémoire.

Une mention toute particulière à Madame Bouchra, ingénieure de laboratoire, pour son aide technique, sa disponibilité constante et sa bienveillance tout au long de la phase expérimentale.

Enfin, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail, leurs remarques et leurs suggestions constructives contribueront sans aucun doute à l'enrichissement de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents,

Que Dieu vous bénisse et vous protège.

Pour vos sacrifices, vos prières silencieuses, votre amour inconditionnel et votre présence constante dans ma vie.

"اللهم احفظهم كما ربياني صغيراً"

À mon cher mari,

Mon soutien le plus précieux, ma source de bonheur et de tranquillité.

Je te remercie du fond du cœur pour ton amour, ta patience et ta confiance, qui m'ont toujours poussée à donner le meilleur de moi-même.

"اللهم اجعل حياتنا مليئة بالحب والبركة، واحفظه لي من كل سوء"

À mes frères (Abderrazek, Mohammed al amine, Youcef, Aboubaker) et mes adorables sœurs (Latifa, Nadia, Amina, Hanene, Aicha),

Merci pour votre soutien, votre affection et vos encouragements dans les moments de doute.

Qu'Allah vous comble de bonheur et de réussite.

À mes neveux adorés,

Les petits anges de la famille,

Votre innocence et votre joie ont toujours su dessiner un sourire sur mon visage.

Je prie Dieu de vous guider, de vous protéger et de vous accorder une vie pleine de lumière.

"وما توفيقي إلا بالله، عليه توكلت وإليه أنيب"

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	
Générale.....	01
CHAPITRE I: Généralité sur les huiles essentielles.	
I.1 Les huiles essentielles.....	04
I.1.1 Définition.....	04
I.1.2. Composition chimique générale.....	04
I.1.2.1. Les carbures terpéniques.....	04
I.1.2.2. Les carbures saturés	04
I.1.3 Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	05
I.1.3.1 Secteur de l'industrie agroalimentaire.....	05
I.1.3.2 Secteur de la parfumerie et de la cosmétique.....	05
I.1.3.3 Secteur de l'industrie pharmaceutique.....	05
I.1.3.4 Secteur de l'industrie chimique.....	05
I.2.1. Activités Biologiques des Huiles Essentielles.....	06
I.2.1.1. Activité Antibactérienne.....	06
I.2.1.2. Activité Antifongique.....	06
I.2.1.3. Activité Antioxydante	06
I.2.1.4. Activité anti-inflammatoire.....	06
I.2.1.5. Activité anti-tumorale	06
I.3. Répartition et localisation.....	07
Chapitre II : les plantes étudiées et les souches microbiennes testées.	
II.1. <i>Juniperus phoenicea</i>	09
II.1.1. Description botanique	09
II.1.2. Position systématique	10
II.1.1.3. Activité biologique.....	10
II.2. <i>Rosmarinus officinalis</i>	10
II.2.1. Description botanique.....	10

II.2.2. Position systématique.....	11
II.2.3 Activités biologiques	12
II.3. Souches bactériennes testées.....	12
II.3.1. <i>Escherichia coli</i> ATCC25922.....	12
II.3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853.....	13
II.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923.....	13
II.3.4. <i>Bacillus subtilis</i> ATCC663313.....	13
Chapitre III : Matériel et Méthode.	
III.1. Matériel.....	15
III.1.1. Matériel végétal	15
III.2.1. Méthodes.....	15
III.2.1.1. Extraction des huiles essentielles.....	15
III.2.1.2. Détermination du rendement d'extraction	16
III.3. Matériel biologique	16
III.3.1. Les souches bactériennes.....	16
III.3.2. Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	17
III.3.3. Méthode de diffusion sur gélose (Aromatogramme)....	17
III.3.3.1. Le repiquage.....	17
III.3.3.2. Préparation de la suspension bactérienne.....	18
III.3.3.3. L'ensemencement.....	18
III.3.3.4. Préparation des dilutions de l'HE.....	18
III.3.3.5. Préparation des disques.....	19
III.3.3.6. Application des disques d'antibiotiques.....	19
III.3.3.7. Lecture de l'aromatogramme.....	19
III.3.4. Méthode de microdilution en bouillon.....	20
III.3.5. Détermination de la (CMI) par la méthode de microdilution en bouillon.....	20
III.3.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	21
Chapitre IV : Résultats et discussion	
IV. Résultats.....	24
IV.1. Calcul du rendement	24
IV.2. Activité antibactérienne des extraits de (J) et (R) concentrés et dilués.....	25
IV.3. Calcul de la CMB par méthode de microdilution.....	29
IV.4. Discussion.....	32
Conclusion	35

Référence Bibliographique	38
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification systématique de <i>Juniperus phoenicea</i> (Menaceur, 2015)	10
Tableau 02 : Classification systématique de <i>R. officinalis</i> (Quezel et Santa, 1963)	11
Tableau 03 : Liste des souches bactériennes (d'origine clinique) testées.....	17
Tableau 04 : Rendement en huiles essentielles (J), (R) par hydrodistillation.....	24
Tableau 05 : Caractéristiques des huiles essentielles extraites.....	24
Tableau 06 : Activité antibactérienne de l'extrait de (J) mesurée en mm.....	25
Tableau 07 : Activité antibactérienne de l'extrait de (R) mesurée en mm.....	27
Tableau 08 : L'effet antibactérien CMB/CMI de l'huile (R) contre différentes bactéries....	30
Tableau 09 : L'effet antibactérien CMB/CMI de l'huile (J) contre différentes bactéries.....	31

Liste des figures

Figure 01 : Illustration schématique du développement des glandes productrices d'huile essentielle (GASPAR, 2004)	07
Figure 02 : Arbrisseau de <i>Juniperus phoenicea</i> dans la région d'El Aouinet (Laouar Amel, 2018)	09
Figure 03 : <i>Rosmarinus officinalis</i> (Marion Leplat, 2017)	11
Figure 04 : Morphologie générale de plante de <i>R. officinalis</i> (Damerdji et Ladjmi, 2014).....	12
Figure 05 : Feuilles séchées de <i>Rosmarinus officinalis</i> (photo personnel)	15
Figure 06 : La plante de <i>Juniperus phoenicea</i> (photo personnel)	15
Figure 07 : Extraction par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (photo personnel)	16
Figure 08 : Les souches bactériennes ont été repiquées (photo personnel).	17
Figure 09 : L'ensemencement des boîtes de Pétri par écouvillonnage (photo personnel)	18
Figure 10 : Application des disques d'huiles essentielles et d'antibiotiques sur une gélose MHA (photo personnel).	19
Figure 11 : : Le matériel et produits utilisés pour la réalisation de la méthode de microdilution en bouillon (photo personnel)	20
Figure 12 : La réalisation du test de microdilution en bouillon sur les plaques à 96 puits (photo personnel)	21
Figure 13 : Dispensation des huiles essentielles diluées dans une plaque de microtitration (photo personnel)	21
Figure 14 : Les huiles extraites de <i>Juniperus phoenicea</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> (photo personnel)	24
Figure 15 : Diamètre des zones d'inhibition de l'huile de (J) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées	25
Figure 16 : Résultats de l'aromatogramme de l'extrait de (J) par la méthode de diffusion sur disques (photo personnel)	26

Figure 17 : Diamètre des zones d'inhibition de l'huile de (R) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées.	27
Figure 18 : Résultats de l'aromatogramme de l'extrait de (R) par la méthode de diffusion sur disques (photo personnel)	29
Figure 19 : Résultat de la microdilution en bouillon utilisée de l'extrait de (R) contre les souches bactériennes (photo personnel)	29
Figure 20 : Résultat de la (CMB) de l'extrait de R contre différentes souches bactériennes par la méthode de microdilution en bouillon (photo personnel)	29
Figure 21 : Résultat de la microdilution en bouillon de l'extrait de (J) contre les souches bactériennes (photo personnel).....	30
Figure 22 : Résultat de la (CMB) de l'extrait de (J) contre différentes souches bactériennes (photo personnel)	31

Liste des abréviations

ATB : Antibiotique.

ATCC: American Type Culture Collection.

BMH : Bouillon Mueller Hinton.

B.subtilis : *Bacillus subtilis*.

CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CN : Gentamycine.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

E. coli : *Escherichia coli*.

GN : Gélose nutritive.

Gram+ : Gram positive.

Gram- : Gram négative.

HE : Huile essentielle.

J : *Juniperus*.

MH : Mueller-Hinton.

NaCl : Chlorure de Sodium.

ND : Non Déterminée.

PH : potentiel hydrogène.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

R : Rosmarinus.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

Introduction Générale

Depuis toujours, les plantes médicinales et aromatiques ont été une ressource de grande valeur dans les approches thérapeutiques traditionnelles à l'échelle mondiale. Ces dernières ont également été appréciées pour leur contribution à la préservation de la santé globale, tout en étant employées pour atténuer, soigner ou empêcher différentes pathologies. Cependant, c'est principalement au cours des dernières décennies que leur potentiel curatif a suscité un intérêt croissant de la part de la recherche scientifique contemporaine, qui s'efforce d'isoler, d'identifier et de comprendre les mécanismes d'action de leurs composés bioactifs (**Rather et al., 2021**).

L'avancement de la chimie de synthèse a conduit à une diminution de l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques. Néanmoins, les réactions indésirables associées à certains traitements pharmaceutiques ont relancé l'intérêt scientifique pour ces produits naturels. Ce regain d'intérêt a conduit à de nouvelles études, principalement dans le but de traiter certaines infections par le biais d'huiles essentielles dérivées de plantes aromatiques. Cette méthode est d'autant plus appropriée compte tenu de l'apparition grandissante de souches bactériennes qui résistent aux antibiotiques. Dans cette situation, il est crucial de modifier les approches thérapeutiques actuelles et de réévaluer les options naturelles par rapport aux traitements traditionnels (**Kempf et al., 2011**).

Des études récentes ont souligné l'importante capacité des huiles essentielles et de leurs composants actifs à agir comme agents antimicrobiens. La diversité moléculaire leur accorde un vaste éventail de caractéristiques biologiques, ce qui pave la voie à une multitude d'applications aussi bien dans le secteur médical qu'industriel. De plus, leur emploi est généralement moins nuisible que celui de nombreux produits synthétiques, car il entraîne peu ou pas d'effets indésirables (**Goetz et Ghedira, 2012**).

De plus, les huiles essentielles gagnent en popularité du fait de l'absence marquée de résistance bactérienne à leur encontre, contrairement aux antibiotiques traditionnels. Cette qualité les positionne comme des candidates prometteuses pour l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques. Plusieurs d'entre elles ont montré une efficacité notable, aussi bien comme adjuvants que comme alternatives aux traitements antibiotiques traditionnels, tout en proposant un meilleur profil de sécurité, notamment en ce qui concerne les effets indésirables (**Nazzaro et al., 2017**).

En Algérie, la médecine traditionnelle a une grande importance, soutenue par une flore locale d'une richesse exceptionnelle. Effectivement, le pays héberge près de 3000 espèces

végétales réparties dans diverses familles botaniques, représentant par conséquent une véritable réserve naturelle. Ces ressources représentent un potentiel considérable pour la recherche pharmaceutique, en tant que source de nouvelles molécules actives destinées au développement de traitements innovants (**Bouزيد et al., 2016**).

Ce travail a pour objectif d'extraction et évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) et le romarin (*Rosmarinus officinalis*).

Ce manuscrit est divisé en trois parties

La première partie consiste en une synthèse bibliographique.

La deuxième partie est consacrée à l'expérimentation

La troisième partie comprend l'analyse des résultats et leurs discussions.

Enfin, une conclusion générale.

Chapitre I.
Généralités sur les huiles
Essentielles

I.1 Les huiles essentielles

I.1.1 Définition

L'expression « huile essentielle » ou « essence végétale » fait référence à un assemblage complexe de composés liquides, non solubles dans l'eau et fortement volatils, dérivés des plantes et identifiables par une senteur prononcée et unique. Selon la Pharmacopée Européenne, une huile essentielle est définie comme suit : « un produit ayant une odeur distincte, généralement complexe dans sa composition, obtenu à partir d'une matière première végétale spécifiquement identifiée, soit par l'utilisation de la distillation à la vapeur d'eau, soit par distillation à sec, ou bien grâce à un procédé mécanique adapté sans application de chaleur. » (Bily Nebie, 2023).

I.1.2. Composition chimique générale

Les principaux constituants des huiles essentielles sont les suivant :

I.1.2.1. Les carbures terpéniques

Les carbures terpéniques possèdent une structure cyclique et se conforment à la formule générale $(C_5H_8)_n$, Exemple : le pinène (José et Fonteau, 2008).

I.1.2.2. Les carbures saturés

Les carbures saturés ne sont pas réductibles, le benzène non plus, mais des composés dérivés, tel le styrène, subissent une réduction. Ils se distinguent par une stabilité remarquable. Leur formule générale se présente sous la forme C_nH_{2n+2} . (Bouyahya et al., 2017).

a) Les alcools

Dans des conditions normales, les alcools sont à l'état liquide. Ils sont souvent utilisés comme solvants pour les autres composés organiques. Les propriétés physiques des alcools sont fortement influencées par la présence du groupe hydroxyle. Le règne végétal regorge de différents types d'alcools, notamment sous la forme de glucides (Peter, 2004).

b) Les phénols

Les phénols sont des composés organiques oxygénés pouvant être considérés comme des dérivés de l'eau. Ils sont utilisés dans le secteur industriel en tant qu'antioxydants, intermédiaires de synthèse, désinfectants et agents de tannage. Exemple : le thymol (Kiel, 2004).

c) Les aldéhydes

Les aldéhydes sont des composés organiques chimiques qui se caractérisent par leur formule générique $R-CHO$. Grâce à leur réactivité chimique élevée, ils sont exploités pour produire des résines synthétiques, des solvants, des teintures, entre autres. Exemple : l'acide cinnamique (Kiel, 2004).

d) Les cétones

La structure chimique des cétones se distingue par l'existence d'un groupement carbonyle ($-C=O$) attaché à deux atomes de carbone. Elles sont couramment employées comme solvants industriels pour les colorants, mais elles ont aussi un rôle en tant qu'intermédiaires dans la synthèse chimique (Kiel, 2004).

e) Les esters

Les esters sont des composés organiques oxygénés dérivés des acides carboxyliques, car ils se forment par substitution d'un atome d'hydrogène de la fonction carboxyle ($-COOH$) d'un acide par un radical alkyle ($-R$) ou aryle ($-Ar$). Les esters aromatiques ont une volatilité réduite et dégagent aussi une odeur plaisante. Les esters benzyliques présentent une irritation supérieure à celle des esters aliphatiques équivalents (Kiel, 2004).

I.1.3 Domaines d'utilisation des huiles essentielles

L'utilisation des huiles essentielles est étendue et englobe plusieurs domaines industriels. Quatre secteurs clés se distinguent parmi les plus significatifs : l'agroalimentaire, la parfumerie et la cosmétique, le secteur pharmaceutique et enfin, l'industrie chimique (Bily Nebie, 2023).

I.1.3.1 Secteur de l'industrie agroalimentaire

On utilise les huiles essentielles en tant que conservateurs alimentaires et comme épices. On les utilise dans divers produits comme les bonbons, les thés, les sirops, les boissons, les gâteaux et les produits laitiers (Bily Nebie, 2023).

I.1.3.2 Secteur de la parfumerie et de la cosmétique

L'industrie de la parfumerie et de la cosmétique figure parmi les plus importants utilisateurs d'huiles essentielles. On les utilise pour confectionner des parfums, des shampoings, des gels de douche, des crèmes, des laits, des déodorants corporels, ainsi que divers produits d'entretien comme les savons, les détergents, les lessives et les adoucissants pour textiles (Bily Nebie, 2023).

I.1.3.3 Secteur de l'industrie pharmaceutique

L'industrie pharmaceutique utilise les huiles essentielles, en particulier pour leurs propriétés antiseptiques externes. On les distingue aussi par leurs propriétés bactériostatiques, bactéricides, antifongiques, protectrices, entre autres (Himed et Hellal, 2011).

I.1.3.4 Secteur de l'industrie chimique

Dans le domaine de la chimie, les huiles essentielles servent de matériaux de base pour la création de principes actifs pharmaceutiques, de vitamines, d'arômes et divers autres produits

chimiques. Elles sont aussi incluses dans les compositions de biopesticides en raison de leur vaste capacité à lutter contre les insectes et les agents infectieux (**Bily Nebie, 2023**).

I.2.1. Activités Biologiques des Huiles Essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle est essentiellement associée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels de ses composants dominants (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) ainsi qu'à leurs effets synergique (**Dorman et al., 2000**).

I.2.1.1. Activité Antibactérienne

Les phénols, notamment, sont les composés les plus performants et ayant le spectre d'action le plus large.

- Carvacrol : connu pour son efficacité et son absence de toxicité, il est employé en tant qu'agent de conservation et arôme dans l'alimentation.
- Thymol : ingrédient majeur de certains bains de bouche.
- Eugénol : employé dans les produits de cosmétique, alimentaires et dentaires. Ces substances possèdent une activité antibactérienne reconnue contre diverses bactéries nuisibles, comme *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejunii*, *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* (**Fabian et al., 2006**).

I.2.1.2. Activité Antifongique

Les huiles essentielles ont aussi démontré une action antifongique contre divers champignons et levures nuisibles (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, etc.) (**Dogmos et al., 2008**).

I.2.1.3. Activité Antioxydante

Les huiles essentielles comme celles de la cannelle, de la muscade, du clou de girofle, du basilic, du persil, de l'origan et du thym renferment des composés antioxydants puissants tels que le thymol et le carvacrol (**Edris, 2007**).

I.2.1.4. Activité anti-inflammatoire

Un grand nombre d'huiles essentielles ont démontré une action anti-inflammatoire. L'huile essentielle extraite des racines de *Carlina acanthifolia* a la capacité de prévenir l'inflammation provoquée chez les rats (**Dordevic et al., 2007**). Il a été rapporté que les huiles essentielles de *Chromolaena odorata* et de *Mikania cordata* ont obtenu des résultats encourageants en bloquant les enzymes liées aux processus inflammatoires (**Bedi et al., 2004**).

I.2.1.5. Activité anti-tumorale

Certaines huiles essentielles possèdent des vertus anti-tumorales et sont utilisées dans le but de prévenir certaines formes de cancer. Par exemple, l'huile essentielle extraite des graines de *Nigella sativa L* a démontré une action cytotoxique sur plusieurs lignées tumorales. Elle limite l'expansion des métastases hépatiques et prolonge la survie des souris ayant développé la tumeur in vivo (Mbarek et al., 2007).

I.3. Répartition et localisation

Les huiles peuvent être conservées dans divers organes de la plante : évidemment les fleurs (bergamotier, tubéreuse), mais aussi les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble) et de manière moins courante, les écorces (cannelle), le bois (bois de rose, santal), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre), et même certains fruits (anis, badiane) ainsi que des graines (muscade) (Bruneton, 1999).

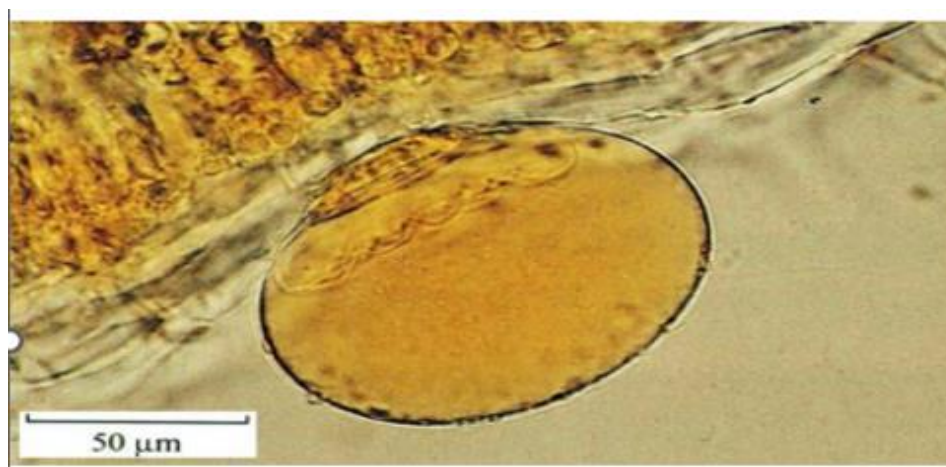


Figure 01 : Illustration schématique du développement des glandes productrices d'huile essentielle (GASPAR, 2004).

Chapitre II.

**Les plantes étudiées et les
souches bactériennes
testées**

II.1. *Juniperus phoenicea*

Selon les régions et les langues, le *J.phoenicea* est désigné par divers noms:
Araâr عرعار (en arabe).

Genévrier rouge, Genévrier *de Lycie* (en français).

Junipero, Sabino, Enebro, *Tascate* (situés au Mexique).

Cade en dormance Morven ou Genévrier à baies rouges (**Ayad et Aymen, 2021**), ou plantes à graines nues (**Constance, 2010**).

II.1.1. Description botanique

Juniperus phoenicea, est un arbuste atteignant environ 8 mètres de hauteur. Il se caractérise par des rameaux brun rougeâtre écailleux et des bourgeons nus.

a- Feuilles

Les feuilles de *J. phoenicea* d'une teinte gris-vert, sont persistantes et aromatiques, sans épines. La majorité des feuilles sont de petites écailles courtes (**Belkacem, 2015**).

b- Fruits

Les fruits ont une forme sphérique et un diamètre variant de 10 à 15 mm. À maturité, ils présentent une couleur rougeâtre et une brillance (**Baba Aissa, 2011**).

c- Tige et racines

Cette espèce possède un tronc rectiligne et une écorce de couleur brunâtre rouge. L'écorce du tronc est de couleur gris brun, étalée et érigée, tandis que le système racinaire s'étend en profondeur (**Mandin, 2006**).



Figure 02 : Arbrisseau de *Juniperus phoenicea* (**Laouar Amel, 2018**).

II.1.2. Position systématique

Selon (**Bousbia et Souaci, 2021**). La classification botanique de cette plante est comme suite :

Tableau 01 : Classification systématique de *J. phoenicea* (Bousbia et Souaci, 2021).

Règne	Plantae
Embranchement	Spematophytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus phoenicea</i>

II.1.1.3. Activité biologique

L'activité biologique comprend les actions effectuées sur les systèmes chimiques et moléculaires, des plus élémentaires aux plus sophistiquées (Mariod et Tahir, 2022).

Selon (Mehira et al, 2021) ; différentes formes d'activités biologiques peuvent être examinées in vivo ou in vitro.

Toutes les essences alcoolisées dérivées des parties aériennes de *J. phoenicea* présentent une activité cytotoxique et antibactérienne significative (Eissa et al., 2014). L'impact des baies de genévrier a été largement exploité comme une solution potentielle pour le diabète, en complément d'un régime alimentaire (Tavares et al., 2012).

Le broyage de ses feuilles s'avère utile comme diurétique ou contre les affections bronchiques. En outre, le goudron de cette plante est employé comme traitement intestinal pour les enfants en substitut du riz de Barbarie, la poudre de ses fruits séchés sert à soigner les abcès et les ulcères cutanés (Eissa et al., 2014).

II.2. *Rosmarinus officinalis*

II.2.1. Description botanique

Rosmarinus officinalis, une plante aromatique à vertus médicinales faisant partie de la famille des Lamiaceae, est originaire de la zone méditerranéenne et se trouve en abondance en Algérie (Oliveira et al., 2019), est un arbuste qui peut atteindre une hauteur de 2 m et qui possède des feuilles vivaces de couleur verte (Ribeiro-Santos et al., 2015).

R. officinalis présente des branches brunes, érigées et rarement prostrées, dotées de feuilles linéaires de couleur vert sombre. C'est un petit arbre de 50 cm à plus d'un mètre, toujours

vert, très ramifié et fortement feuillé (ses feuilles sont vertes et striées sur le dessus, blanches et duveteuses sur le dessous) ; Ses fleurs, de taille réduite, sont disposées en verticilles axillaires et possèdent une corolle qui tire légèrement sur le blanc et le violet. Elles ont deux étamines latérales clairement visibles qui constituent l'androcée, accompagnées d'une dent marginale sur leurs filaments. Des fleurs d'un bleu clair ou presque blanches, souvent groupées en petites grappes aux aisselles et aux extrémités (**Ribeiro-Santos et al., 2015**).



Figure 03 : *Rosmarinus officinalis* (Marion Leplat, 2017).

II.2.2. Position systématique

La systématique du romarin est décrite (**Quezel et Santa, 1963**) comme suivant :

Tableau 02 : Classification systématique de *R. officinalis* (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i>



Figure 04 : Morphologie générale de plante de *R. officinalis* (Damerdji et Ladjmi, 2014).

II.2.3. Activités biologiques

Selon la médecine traditionnelle, l'huile essentielle de *R. officinalis* est employée pour soigner la dyspepsie et les formes bénignes des troubles gastro-intestinaux spasmodiques ainsi que les problèmes circulatoires. Elle est également utilisée en complément du traitement des douleurs musculaires ou articulaires et des inflammations. Par ailleurs, les parties aériennes de cette plante ont été exploitées en tant que teinture ou infusion pour traiter les troubles gastriques et les maladies associées à la douleur et à l'inflammation (Borges et al., 2018).

L'huile essentielle de *R. officinalis* contient une abondance de métabolites secondaires aux vertus thérapeutiques notables, et elle est réputée pour ses capacités antioxydantes (Wang et al., 2008). Et anti-inflammatoires, attribués à ses composés tels que le 1,8-cinéole, l' α -pinène et le camphre (Borges et al., 2018 ; Rufino et al., 2015).

Concernant l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (Gitaari et al., 2019), une association a été établie avec des chemotypes contenant une forte proportion d' α -pinène (50,8% d' α -pinène) (Mekonnen et al., 2016).

D'autres recherches ont également démontré que l'huile essentielle de *R. officinalis* possède des propriétés anti-ulcérogènes (Dias et al., 2000), antinociceptives (Takaki et al., 2008), diurétiques (Haloui et al., 2000) ainsi qu'anti-tumorigènes (Al-Sereiti et al., 1999).

II.3. Souches bactériennes testées

II.3.1. *Escherichia coli* ATCC25922

E. coli est un Gram négatif. Ces bactéries ont typiquement une forme de tige, mesurant environ 2,0 micromètres (μm) en longueur et entre 0,25 et 1 μm en diamètre, avec un volume

cellulaire allant de 0,6 à 0,7 μm^3 . La membrane externe qui enveloppe la paroi cellulaire agit comme un obstacle pour certains antibiotiques tels que la pénicilline, et elle ne subit pas de dommages à cause de cette dernière. Les souches dotées de ciliatures péritriches ont la capacité de se mouvoir (**Delarras, 2014**).

II.3.2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853

Est une bactérie Gram-, asporogène de forme bacille monoflagellé. Elle mesure approximativement entre 1 et 5 μm en longueur et entre 0,5 et 1 μm en largeur. Elle offre une grande flexibilité nutritionnelle (**Chups, 2017**).

P. aeruginosa, étant une bactérie possède une membrane externe renfermant une protéine de type F. Cette protéine agit de manière similaire à la porine, facilitant l'entrée de certaines molécules et ions dans les bactéries. En tant que protéine structurale, elle préserve la forme de la cellule bactérienne. La protéine F de *P. aeruginosa* réduit la perméabilité de la membrane externe, car elle limiterait l'absorption des substances nuisibles par la bactérie et lui conférerait une forte résistance aux antibiotiques (**Chups, 2017**).

II.3.3. *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Il s'agit d'une bactérie Gram+, sphérique et immobile, avec un diamètre approximatif de 0,5 à 1 μm , non sporulée et facultativement anaérobique (à l'exception de *S. aureus subsp. anaerobius*). *S. aureus* produit des colonies de couleur jaune, d'où son nom latin « *aureus* », signifiant or (**Kluytmans et al., 1997**).

II.3.4. *Bacillus subtilis* ATCC663313

La bactérie Gram+ *B. subtilis*, largement distribuée, a la capacité de s'épanouir dans une multitude d'environnements. Ce groupe est constitué de quatre espèces : *B. subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis* et *Bacillus amyloliquefaciens*, qui ont été identifiées il y a plusieurs dizaines d'années. Avec le temps, les chercheurs ont décrit de nombreuses nouvelles espèces et sous-espèces, en se basant sur l'évolution moléculaire, la physiologie et les spécificités chimio-taxonomiques (**Özdemir et Emine Yılmaz, 2024**).

Chapitre III.

Matériels et Méthodes

L'ensemble de ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de département de Biologie appliquée, relevant de la Faculté des sciences exactes, des sciences de la nature et de la vie de hamma lakhdar d'oued souf.

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel végétal

Les parties aériennes des deux plantes *Rosmarinus officinalis* et *Juniperus phoenicea* ont été récoltées au mois de mars dans la région de Batna.

Les feuilles et les tiges ont été séchées à l'air, à l'abri de la lumière, puis conservées dans des sacs propres en papier jusqu'au moment de l'extraction.



Figure 05 : Feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* (photo personnel).



Figure 06 : La plante de *Juniperus phoenicea* (photo personnel).

III.2.1. Méthodes

III.2.1.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée selon la méthode classique d'hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type (Clevenger), pendant une durée de 2 heures.

Après avoir pesé 200g de matière végétale est mise dans un ballon en verre, additionnées de 1L d'eau, l'ensemble est porté à l'ébullition dans un chauffe-ballon pendant 3 heures à température 100°C. La vapeur chargée de substances volatiles traverse le réfrigérant et se condense.

À la fin de la distillation, l'huile essentielle surnageante a été récupérée, séchée sur du sulfate de sodium anhydre pour éliminer toute trace d'humidité, puis stockée à 4 °C dans des flacons en verre brun jusqu'à son analyse.

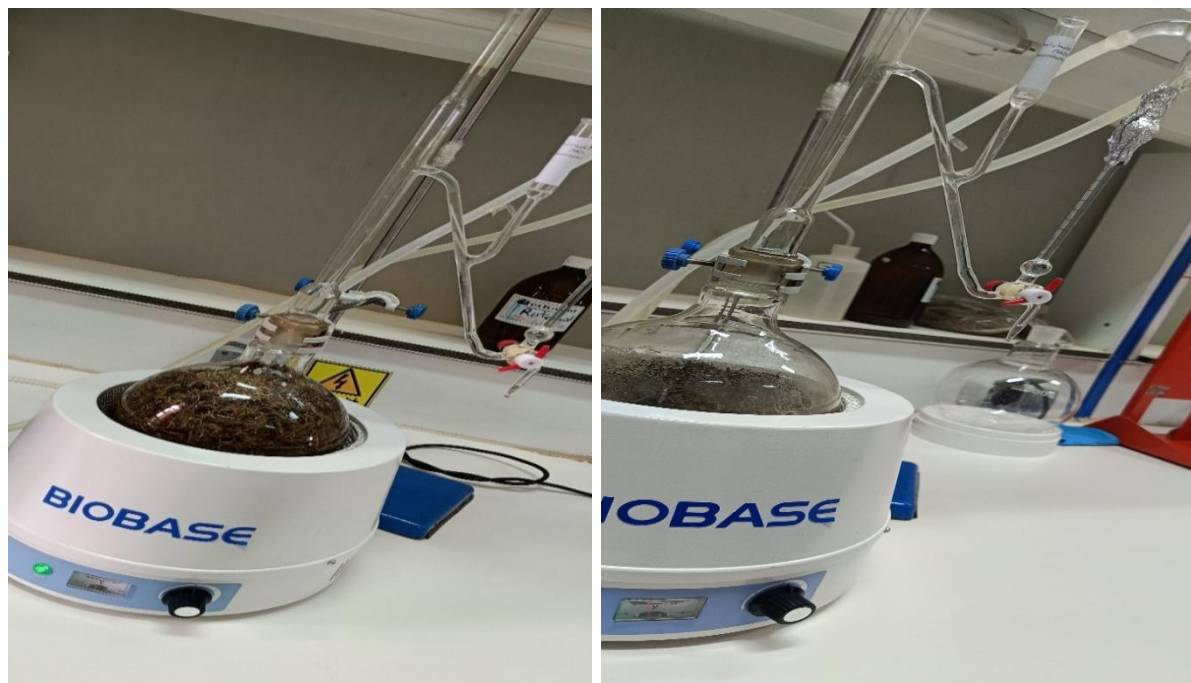


Figure 07 : Extraction par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (photo personnel).

III.2.1.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement est exprimé en pourcentage par la formule suivante :

$$\text{Rendement}\% = \frac{\text{Masse d'huile essentielle (g)}}{\text{Masse de la plante (g)}} \times 100$$

III.3. Matériel biologique

III.3.1. Les souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées sont des isolats pathogènes cliniques fournis par deux laboratoires d'analyses médicales à oued souf.

Les bactéries qui ont été testés pour détecter l'activité antibactérienne de l'huile de *R.officinalis* et *J. phoenicea* sont :

Tableau03 : Liste de souches bactériennes (d'origine clinique) testées.

Gram Positive	Gram Négative
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	<i>Escheriachia coli</i> ATCC25922
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 11774	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853

III.3.2. Activité antibactérienne des huiles essentielles

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles sélectionnées a été réalisée à l'aide de deux méthodes standardisées :

- La méthode de diffusion sur gélose « aromatogramme ».
- La méthode de microdilution en milieu liquide, utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la (CMB) de la croissance bactérienne.

III.3.3. Méthode de diffusion sur gélose (Aromatogramme)

Cette méthode permet d'évaluer in vitro l'activité antibactérienne des huiles essentielles. Elle s'apparente à un antibiogramme, à la différence que les antibiotiques y sont remplacés par des huiles essentielles reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes (Da Silva, 2010).

III.3.3.1. Le repiquage

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées en utilisant la méthode des stries sur gélose nutritive (38 g pour 1 L d'eau distillée) dans des boîtes de Pétri. À l'aide d'une anse de platine stérile, elles ont été ensuite incubées à 37°C dans une étuve pendant 18 à 24 heures. Cette étape vise à obtenir une culture jeune avec des colonies isolées, qui ont ensuite été utilisées pour préparer l'inoculum bactérien (Bouchra et al., 2003).



Figure 08 : Le repiquage des souches bactériennes (photo personnel).

III.3.3.2. Préparation de la suspension bactérienne

Deux colonies de chaque type de bactérie ont été échantillonnées et déplacées dans 9 ml d'eau physiologique. Par suite d'un processus d'agitation, l'inoculum a été modifié pour obtenir une turbidité standard de 0,5 McFarland.

Ce réglage a été effectué soit en ajoutant une colonie supplémentaire, soit par dilution avec de l'eau physiologique stérile, afin d'obtenir une densité optique située entre 0,08 et 0,13 mesurée à une longueur d'onde de 625 nm. On estime que la concentration finale de l'inoculum est d'environ 10^8 UFC/ml (Khribch *et al.*, 2017).

III.3.3.3. L'ensemencement

La préparation de la suspension bactérienne a été réalisée et ensuite utilisée pour ensemer des boîtes de Pétri remplies de gélose Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon, afin d'obtenir un tapis bactérien uniforme. L'inoculation est réalisée par le biais d'un écouvillonnage.

Il s'agit d'imbiber un écouvillon de coton stérile dans la suspension, puis de le frotter, une fois essoré à l'intérieur du tube, trois fois sur l'ensemble de la surface gélosée pour créer des stries étroites.



Figure 09: L'ensemencement des boîtes de Pétri par écouvillonnage (photo personnel).

III.3.3.4. Préparation des dilutions de l'HE

Quatre tubes en verre stérilisés ont été préparés pour réaliser une série de dilutions décroissantes (1/2, 1/4, 1/8, 1/16). L'huile essentielle pure a été utilisée comme solution mère, dont 500 μ L ont été introduits dans le premier tube, puis complétés avec 500 μ L de DMSO, obtenant ainsi une dilution 1/2. À partir de ce tube, 500 μ L ont été prélevés et transférés dans un second tube contenant également 500 μ L de DMSO (dilution 1/4), puis bien homogénéisés. La même procédure a été répétée pour les dilutions suivantes jusqu'à obtention de la dilution 1/16.

III.3.3.5. Préparation des disques

Des disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre (Whatman n°1) ont été imprégnés avec 10 µL des huiles essentielles pures ou diluées (1/2, 1/4, 1/8, 1/16) dans le DMSO selon les dilutions préparées. Après l'imprégnation, les disques ont été séchés pendant environ 15 minutes (Bekhechi et al., 2008).

III.3.3.6. Application des disques d'antibiotiques

Pour chaque boîte de pétri, sept disques stériles sont déposés à l'aide de pince stérile sur la gélose ensemencée. Un disque chargé des huiles essentielles pur, Quatre disques chargés des huiles diluées, un disque chargé d'antibiotique (témoin positive) et un disque chargé de DMSO uniquement comme un (témoin négatif). Les boîtes de pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

Dans cette étude, quatre antibiotiques ont été utilisés selon le type de bactérie ciblée : l'ampicilline pour *Escherichia coli*, l'oxacilline pour *Staphylococcus aureus*, la ciprofloxacine pour *Pseudomonas aeruginosa* et l'amoxicilline pour *Bacillus subtilis*. Chaque antibiotique a été choisi en fonction de la sensibilité connue de la souche bactérienne correspondante.

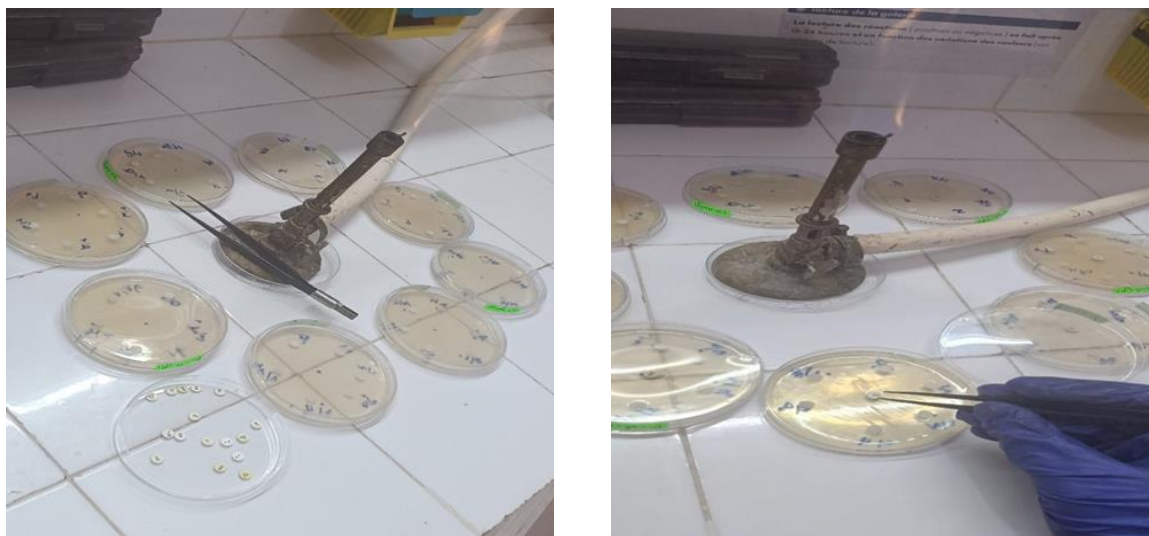


Figure10: Application des disques d'huiles essentielles et d'antibiotiques sur une gélose MHA (photo personnel).

III.3.3.7. Lecture de l'aromatogramme

L'activité antibactérienne se révèle par la formation d'une zone d'inhibition de la prolifération microbienne autour des disques contenant l'extrait à évaluer. Ainsi, la zone d'inhibition autour des disques a été mesurée à l'aide d'une règle pour déterminer son diamètre. On a procédé à l'évaluation de l'activité en déterminant le diamètre (en mm) des zones d'inhibition qui entourent les disques. Quatre niveaux d'activité antibactérienne ont été utilisés pour interpréter les résultats (Balouiri et al, 2016).

- Non sensible : ($\emptyset < 8$ mm)
- Très sensible : ($15 < \emptyset < 19$ mm)
- Sensible : ($9 < \emptyset < 14$ mm)
- Extrêmement sensible : ($\emptyset > 20$ mm)

III.3.4. Méthode de microdilution en bouillon

La microdilution en phase liquide est une technique normalisée permettant de définir la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) de deux catégories d'huiles végétales, (R) et (J), face à plusieurs souches bactériennes. Le test est effectué conformément aux directives de l'Institut des standards cliniques et de laboratoire (CLSI) (Qaiyumi, 2007 ; Weinstein, 2018 ; Wayne, 2010 ; PA, 2002).

III.3.5. Détermination de la (CMI) par la méthode de microdilution en bouillon

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été réalisée en recourant à la technique de microdilution avec des microplaques comportant 96 puits. En premier lieu, on prépare des suspensions bactériennes et Les souches bactériennes sont mises en culture sur une gélose Mueller-Hinton (MH), puis inoculées dans un bouillon Mueller-Hinton enrichi en cations (MHB). Les cultures sont mises en incubation jusqu'à atteindre une turbidité manifeste, puis elles sont diluées pour obtenir une turbidité de 0,5 McFarland (Aouni et al., 2013).

Ensuite, la solution d'extrait végétal pour les deux huiles essentielles est préparée en dissolvant l'extrait dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 25 %. La solution est homogénéisée par vortex pendant 1 min.



Figure 11 : Matériels et produits utilisés pour la réalisation de la méthode de microdilution en bouillon (photo personnel).

On prépare la microplaque en insérant 100 μ L de la solution d'extrait végétal dans chaque puits. Par la suite, 50 μ L de la suspension bactérienne sont ajoutés à chaque puits. Pour

chaque isolat, un témoin de croissance (sans antibiotique ni xénobiotique) et un témoin stérile (uniquement MHB) sont prévus (Schwalbe *et al.*, 2007).

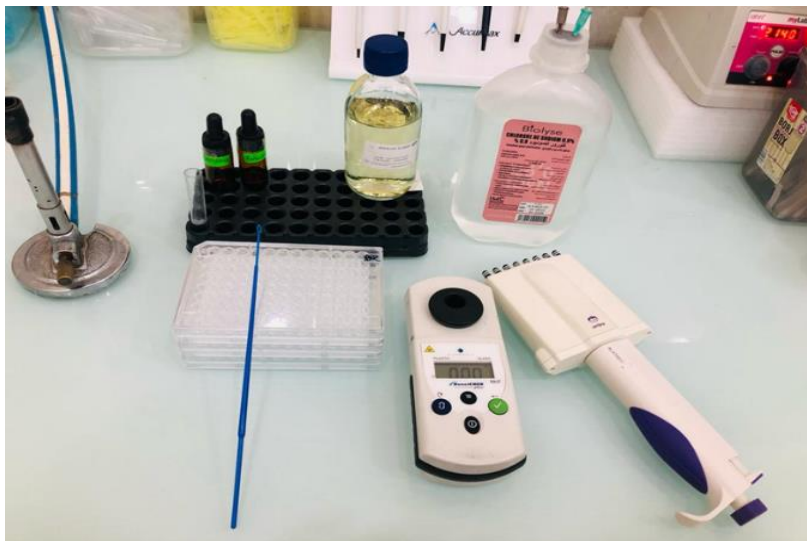


Figure 12: La réalisation du test de microdilution en bouillon sur les plaques à 96 puits (photo personnel).

On incube la microplaque à une température de 37 °C pendant une durée allant de 18 à 24 heures. Par suite de l'incubation, la (CMI) est définie comme la concentration minimale d'extrait végétal capable de freiner le développement bactérien (Wayne, 2010).



Figure 13 : Dispensation des huiles essentielles diluées dans une plaque de microtitration (photo personnel).

III.3.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

- Sélection des puits à partir de la microplaque CMI

Identifier les puits dans lesquels aucune turbidité (croissance bactérienne) n'a été observée lors du test de la CMI. Cela signifie que les bactéries n'ont pas proliféré à ces concentrations.

- Repiquage (Spot test)

À l'aide d'une micropipette stérile, prélever 3–5 µL de chaque puits sans croissance apparente. Déposer cette goutte sur une boîte de gélose MHA, sans huile essentielle ni antibiotique. Faire cela pour chaque concentration testée sans croissance visible.

- Contrôle positif et négatif

Spot contrôle positif : goutte issue du puits contrôle contenant les bactéries sans huile.

Spot contrôle négatif : goutte issue du puits sans bactérie (aucune croissance attendue).

- Incubation

Incuber les boîtes de gélose à 37 °C pendant 24 heures.

- Lecture des résultats

La CMB (Concentration Minimale Bactéricide) correspond à la plus faible concentration de l'extrait végétal pour laquelle aucune prolifération bactérienne visible n'est observée, ce qui traduit une élimination efficace des bactéries. Elle est déterminée par l'absence totale de colonies bactériennes sur les milieux gélosés après repiquage des puits sans croissance apparente. Cette méthode permet ainsi de distinguer une action bactéricide (destruction des bactéries) d'une simple inhibition de la croissance. Elle s'avère particulièrement utile pour évaluer les propriétés antibactériennes des extraits végétaux contre différentes souches bactériennes, dans un format à haut débit (Suppi et al., 2015).

Chapitre IV.

Résultats et Discussions

IV. Résultats

IV.1. Calcul du rendement

Le rendement est exprimé en pourcentage par rapport à la masse de plante utilisée.

Tableau 04 : Rendement en huiles essentielles (J) et (R) par hydrodistillation.

Plante	Masse utilisée(g)	Volume extrait(ml)	Rendement (%)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	200 g	3,11 ml	1,56 %
<i>Juniperus phoenicea</i>	200 g	1,25 ml	0,62 %

D'après le tableau, on remarque que les rendements en huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau sont variables. L'espèce *Rosmarinus officinalis* est la plante aromatique qui présente la teneur la plus importante, alors que l'espèce *Juniperus phoenicea* donné un rendement acceptable.

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**).

Tableau 05 : Caractéristiques des huiles essentielles extraites.

Plante	Aspect	Odeur	Couleur
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Liquide clair, mobile	Aromatique	Jaune pale
<i>Juniperus phoenicea</i>	Liquide fluide, limpide	Légèrement épicée	Jaune clair



Figure 14: Les huiles extraites de *Juniperus phoenicea* et de *Rosmarinus officinalis*.

IV.2. Activité antibactérienne des extraits de (J) et (R) concentrés et dilués

Concernant les extraits concentrés et dilués, des zones d'inhibition ont été observées. Les valeurs présentées correspondent aux moyennes des diamètres mesurés en (mm) pour chaque essai répété. On utilise pour chaque souche bactérienne un genre d'antibiotique : *E.coli* (TE), *S.aureus* (OX), *P.aeruginosa* (P), et le *B.subtilis* (CN). Les diamètres des zones d'inhibition sont résumés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 06 : Activité antibactérienne de l'extrait de (J) mesurée en mm.

	HEs 1/2	HEs 1/4	HEs 1/8	HEs 1/16	ANB	HEs P	TN
<i>E.coli</i>	10	9	6	6	25	12	6
<i>S.aureus</i>	12	8	6	6	23	16	6
<i>P.aeruginosa</i>	6	6	6	6	7	6	6
<i>B.subtilis</i>	10	8	6	6	16	15	6

Les résultats obtenus à partir du test de diffusion sur disque montrent que l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* possède une activité antibactérienne variable selon la souche bactérienne et la concentration utilisée.

- Non sensible : ($\emptyset < 8$ mm)
- Sensible : ($9 < \emptyset < 14$ mm)
- Très sensible : ($15 < \emptyset < 19$ mm)
- Extrêmement sensible : ($\emptyset > 20$ mm)

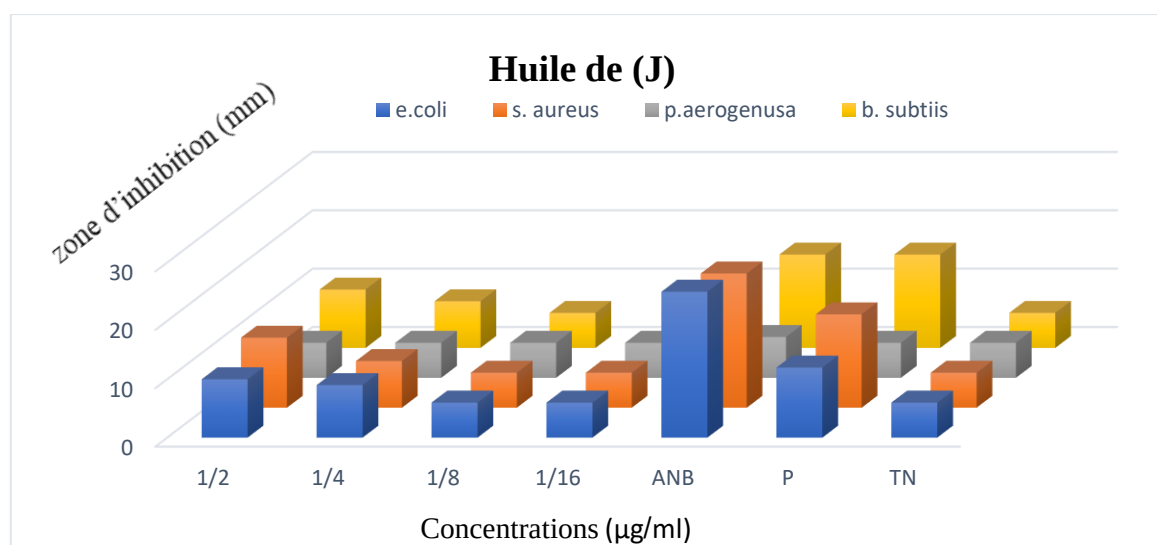


Figure 15 : Diamètre des zones d'inhibition de l'huile (J) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées.

➤ *Escherichia coli*

L'huile essentielle de (J) montre une activité modérée contre *E. coli*. La zone d'inhibition maximale est de 12 mm avec l'huile pure, ce qui reste significatif mais inférieur à celle produite par l'antibiotique de référence (25 mm). À 1/2, l'inhibition est de 10 mm, puis elle diminue avec la dilution : 9 mm à 1/4, et seulement 6 mm à 1/8 et 1/16, une valeur équivalente au témoin négatif. Cela traduit une diminution dose-dépendante de l'efficacité, confirmant que l'huile perd son pouvoir antibactérien à faibles concentrations. *E. coli* semble donc partiellement sensible à l'huile.

➤ *Staphylococcus aureus*

L'huile essentielle est plus efficace contre *S. aureus*, avec une zone d'inhibition atteignant 16 mm à l'état pur et 12 mm à 1/2. Ces résultats se rapprochent de ceux de l'antibiotique standard (23 mm), ce qui montre une activité intéressante. À 1/4, la zone d'inhibition tombe à 8 mm, puis à 6 mm à partir de 1/8, indiquant là aussi une baisse progressive avec la dilution. Cela confirme que les bactéries Gram positives, comme *S. aureus*, sont plus sensibles aux huiles essentielles, probablement en raison de la structure plus simple de leur paroi cellulaire.

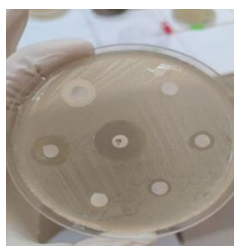
➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Aucune activité antibactérienne notable n'est observée. Les zones d'inhibition sont constantes à 6 mm pour toutes les dilutions ainsi que pour le témoin négatif, ce qui suggère une résistance complète de cette souche à l'huile de (J). Cela confirme que *P. aeruginosa* est particulièrement difficile à cibler par les composés naturels, en raison de ses nombreux mécanismes de résistance (barrière externe, pompes à efflux, biofilm...).

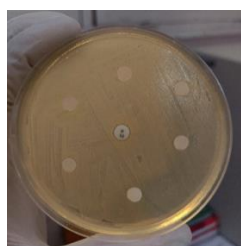
➤ *Bacillus subtilis*

Une activité modérée est observée, avec 15 mm de zone d'inhibition pour l'huile pure, et 10 mm à 1/2. À 1/4, l'activité diminue à 8 mm, puis à 6 mm à partir de 1/8. Bien que l'effet soit moins important que celui de l'antibiotique de référence (16 mm), l'huile démontre tout de même un potentiel antimicrobien intéressant, notamment à forte concentration. Ce résultat est en cohérence avec la sensibilité générale des bactéries Gram positives aux extraits naturels.

S.aureus



P.aeruginosa



E.coli



B.subtilis

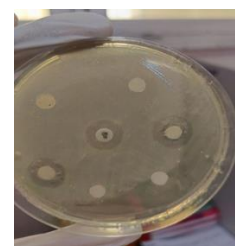


Figure 16 : Résultats de l'aromatogramme de l'extrait de (J) par la méthode de diffusion sur disques (photo personnel).

Tableau 07 : Activité antibactérienne de l'extrait de (R) mesurée en mm.

	HEs 1/2	HEs 1/4	HEs 1/8	HEs 1/16	ANB	HEs P	TN
<i>E.coli</i>	10	10	8	6	25	16	6
<i>S.aureus</i>	10	8	8	6	19	16	6
<i>P.aerugenosa</i>	6	6	6	6	8	6	6
<i>B.subtilis</i>	9	7	6	6	15	14	6

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* par la méthode de diffusion sur disque a montré une efficacité qui varie en fonction des souches bactériennes testées et des concentrations utilisées.

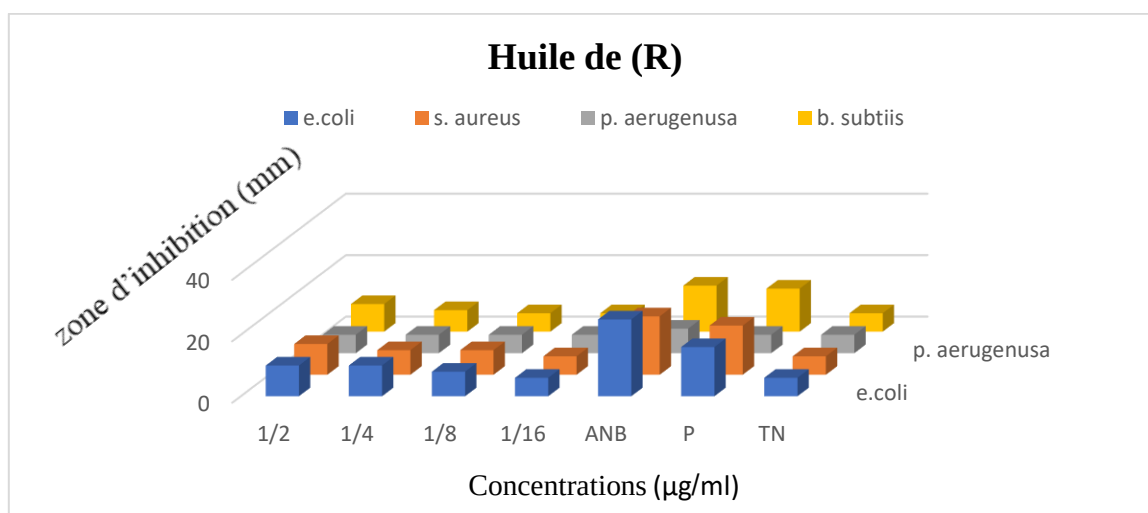


Figure 17 : Diamètre des zones d'inhibition de l'huile de (R) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées.

➤ *Escherichia coli*

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle contre *E. coli* révèle une efficacité modérée. À l'état pur, la zone d'inhibition atteint 16 mm, ce qui indique un effet antibactérien notable. Cependant, cette activité diminue progressivement avec les dilutions : 10 mm à 1/2 et

1/4, 8 mm à 1/8, et seulement 6 mm à 1/16. Cela montre clairement une relation dose-dépendante : plus la concentration diminue, plus l'effet antibactérien s'affaiblit. En comparaison, l'antibiotique standard génère une zone d'inhibition de 25 mm, ce qui reste nettement supérieur à celle observée pour l'huile essentielle. Cela indique que l'huile peut constituer une alternative naturelle, bien que moins puissante, aux antibiotiques de synthèse contre *E. coli*.

➤ *Staphylococcus aureus*

Présente une sensibilité satisfaisante à l'huile essentielle de romarin. La zone d'inhibition maximale enregistrée est de 16 mm avec l'huile pure, ce qui se rapproche de l'effet de l'antibiotique (19 mm). Aux concentrations 1/2, 1/4 et 1/8, l'effet reste présent, avec respectivement 10 mm, 8 mm et 8 mm, avant de baisser à 6 mm à 1/16. Ces résultats indiquent que l'huile essentielle est particulièrement efficace contre les bactéries Gram positives comme *S. aureus*, ce qui peut être attribué à la perméabilité plus faible de leur paroi cellulaire. Cela renforce l'intérêt de l'huile de romarin dans la lutte contre ce type de pathogène.

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats observés indiquent une faible ou inexistante activité antibactérienne de l'huile essentielle, quelle que soit la concentration testée. En effet, les zones d'inhibition restent constantes à 6 mm pour toutes les dilutions, y compris pour l'huile pure, ce qui correspond à la valeur du témoin négatif (DMSO). Cela suggère que l'huile n'a aucun effet significatif sur cette souche. Cette résistance peut être liée à la nature intrinsèque de *P. aeruginosa*, une bactérie Gram-négative connue pour ses systèmes de défense complexes, comme la formation de biofilms et l'utilisation de pompes à efflux. Ces résultats confirment la difficulté à traiter cette bactérie par des moyens naturels.

➤ *Bacillus subtilis*

L'huile essentielle montre une activité modérée mais intéressante. À l'état pur, la zone d'inhibition atteint 14 mm, ce qui est proche de celle obtenue avec l'antibiotique standard (15 mm). À 1/2 et 1/4, les zones mesurent respectivement 9 mm et 7 mm, et tombent à 6 mm pour les dilutions 1/8 et 1/16. Ces données révèlent une diminution graduelle de l'activité antibactérienne avec la dilution, similaire à ce qui a été observé pour *E. coli* et *S. aureus*. Cela montre que *B. subtilis* est sensible à l'huile essentielle, particulièrement à forte concentration, ce qui en fait une cible potentielle dans les applications thérapeutiques à base de plantes.

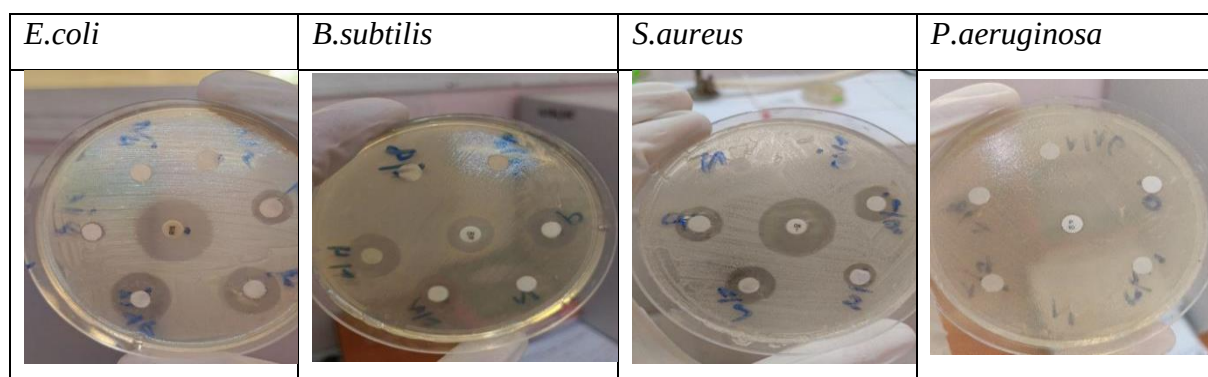


Figure 18 : Résultats de l'aromatogramme de l'extrait de (R) par la méthode de diffusion sur disques (photo personnel).

IV.3. Calcul de la CMB et CMB par méthode de microdilution

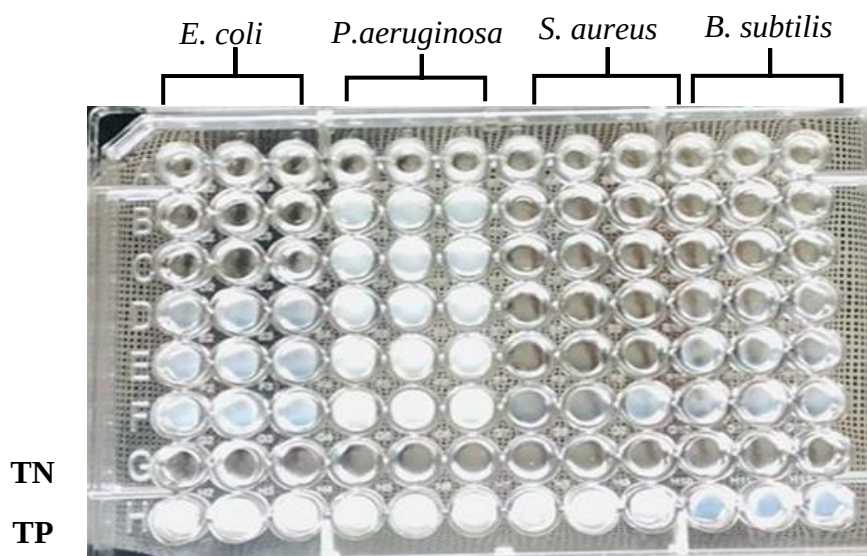


Figure 19 : Résultat de la microdilution en bouillon utilisée de l'extrait de (R) contre les souches bactériennes.

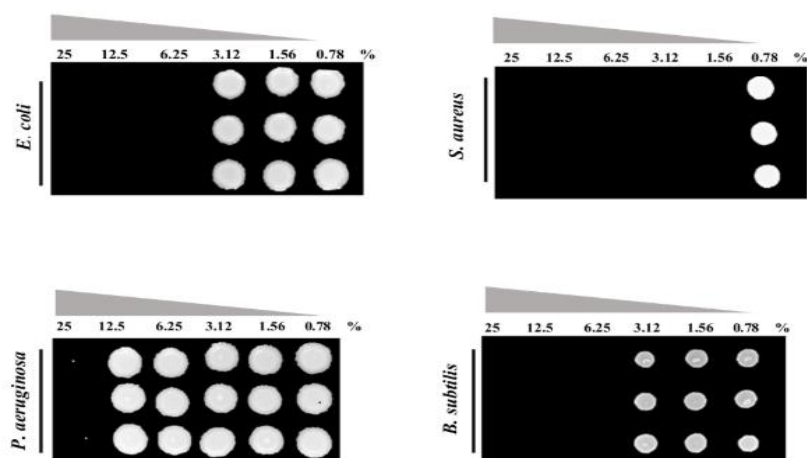


Figure 20 : Résultat de la (CMB) de l'extrait de (R) contre différentes souches bactériennes.

Tableau 08 : L'effet antibactérien CMB/CMi de l'huile (R) contre différentes bactéries.

Souches bactériennes	CMI (%)	CMB (%)	CMB/CMI	Effet antibactérienne
<i>Escherichia coli</i>	6,25	6,25	1	Bactéricide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	25	1	Bactéricide
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,56	1,56	1	Bactéricide
<i>Bacillus subtilis</i>	6,25	6,25	1	Bactéricide

L'huile essentielle de (R) a démontré une notable action bactéricide contre toutes les souches évaluées avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricide (CMB) plutôt basses, particulièrement contre le *Staphylococcus aureus* (CMI = CMB = 1,56 %) et le *Bacillus subtilis* (6,25 %). On peut attribuer cette efficacité à l'existence de composés bioactifs tels que le 1,8-cinéole, le camphre ou le bornéol, qui sont réputés pour leurs vertus antimicrobiennes.

Le rapport CMB/CMI étant égal à 1 dans tous les cas où la CMB a été déterminée, cela confirme que l'effet observé est bactéricide plutôt que bactériostatique. Cette donnée est particulièrement pertinente dans une perspective thérapeutique, notamment pour le développement d'agents naturels antimicrobiens.

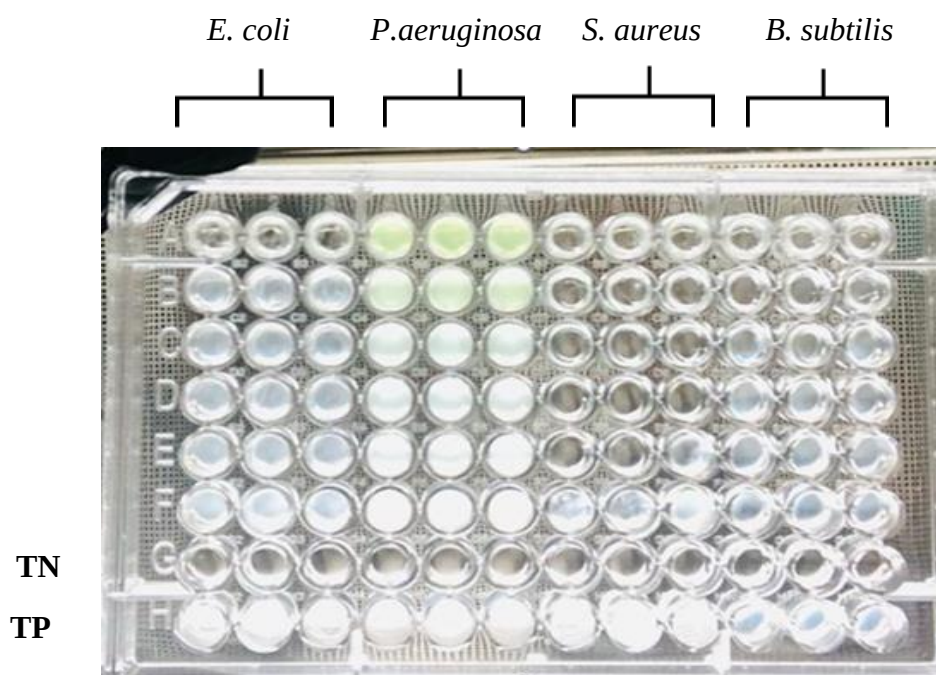


Figure 21 : Résultat de la microdilution en bouillon de l'extrait de (J) contre les souches bactériennes.

TN : Témoin négative.

TP : Témoin positive.

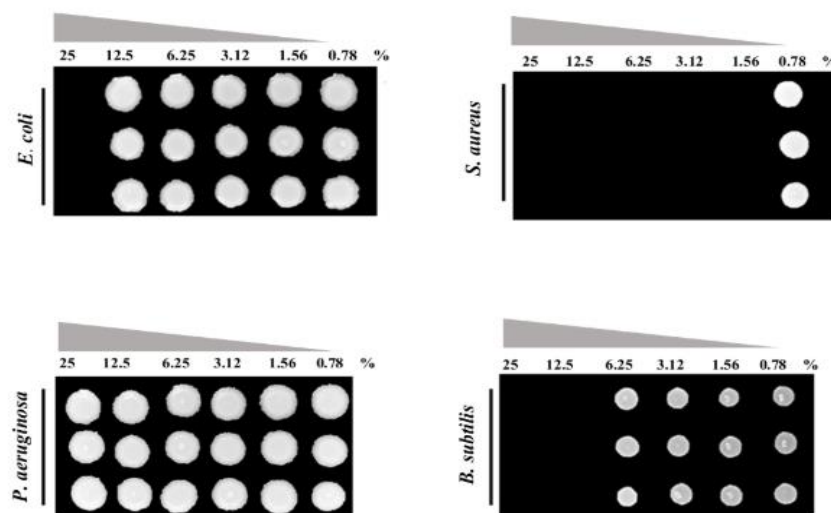


Figure 22 : Résultat de la (CMB) de l'extrait de (J) contre différentes souches bactériennes.

Tableau 09 : l'effet antibactérien CMB/CMI de l'huile (J) contre différentes bactéries.

Souches bactériennes	CMI (%)	CMB (%)	CMB/CMI	Effet antibactérienne
<i>Escherichia coli</i>	25	25	1	Bactéricide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 25	> 25	ND	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,56	1,56	1	Bactéricide
<i>Bacillus subtilis</i>	12,5	12,5	1	Bactéricide

Note : Très forte concentration, ND : non déterminée.

> **NB** : Un ratio CMB/CMI supérieur ou égal à 4 est habituellement interprété comme la présence d'un composé bactériostatique, alors qu'un ratio inférieur ou égal à 4 est perçu comme l'indication d'un composé bactéricide (Lushniak, 2014 ; Suzuki et al., 1953).

L'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* a aussi montré une activité notable, particulièrement contre le *Staphylococcus aureus* (CMI = CMB = 1,56%) et le *Bacillus subtilis* (12,5 %). Cependant, on a constaté une efficacité beaucoup plus faible contre *Escherichia coli* (25 %), et aucune activité notable n'a été observée contre *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie connue

pour sa résistance naturelle aux agents antimicrobiens, probablement due à la faible perméabilité de sa membrane externe et à ses systèmes d'efflux.

IV.2. Discussions

Les résultats obtenus à partir de la méthode de microdilution en bouillon ont permis d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de (R) et de (J) contre quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

Les modes d'action des huiles essentielles sur les micro-organismes sont complexes et comprennent l'inhibition progressive d'une voie biochimique commune, la suppression d'enzymes protectrices, ainsi que l'emploi de substances actives de la paroi cellulaire pour optimiser l'absorption d'autres agents antimicrobiens. On a constaté une synergie entre le carvacrol et divers hydrocarbures monoterpéniques (comme l' α -pinène, le camphène, le myrcène, l' α -terpinène et le p-cymène) qui possèdent habituellement des propriétés antimicrobiennes faibles (**Bassolé et Juliani, 2012**).

L'action antibactérienne des huiles essentielles et leur mécanisme d'action sont directement déterminés par la nature et la proportion de leurs composants présents dans leur formulation. Les composés prédominants sont généralement à l'origine de l'activité antibactérienne notée. Les phénols (comme le carvacrol, le thymol et l'eugénol) sont les composés les plus antimicrobiens, suivis des alcools (tels que le cinéole et le linalol...) et dans une moindre mesure, des alcènes (comme le p-cymène, le pinène et le terpinène...) (**Burt, 2004**).

Les huiles essentielles dominées par la présence de phénol ou d'alcool sont plus actives que celles où le limonène (un hydrocarbure monoterpénique) est le composé prédominant (**Inouye et al., 2001**).

Ces observations ont été également partagées par (Dorman et Deans, 2000), en mettant en évidence les hydrocarbures monoterpéniques. L'effet des huiles essentielles est principalement déterminé par la nature et les propriétés des constituants actifs, notamment leur caractère hydrophobe qui leur donne la capacité de traverser la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne. Cela peut provoquer une modification de la conformation de la membrane (**Lemes Raiane et al., 2018**).

Typiquement, la première cible des huiles essentielles sur les cellules bactériennes est la membrane plasmique. Cela est directement associé à l'hydrophobicité des molécules constituant les huiles essentielles. Cette caractéristique leur permet de s'intégrer entre les phospholipides de la membrane et garantit leur dissolution dans la bicouche lipidique. Cela

entraîne une perturbation de la structure de la membrane plasmique et un changement de sa perméabilité aux ions, protons et autres éléments cellulaires **(Carson et al., 2006)**.

En plus des modifications de la membrane, ces molécules peuvent franchir la bicouche lipidique, infiltrer les cellules et interagir avec des cibles au sein du cytoplasme **(Cristani et al., 2007)**.

Des recherches précédentes ont prouvé que la plupart des huiles essentielles examinées pour leurs vertus antibactériennes ont une action plus marquée contre les bactéries Gram positives. On attribue la résistance des Gram – à leur membrane externe hydrophile qui a la capacité de bloquer l'infiltration de composés hydrophobes au sein de la membrane cellulaire ciblée **(Wan, 1998)**.

En général, ces résultats indiquent que l'activité des huiles essentielles testées varie en fonction du type de bactérie. Il semble que *Rosmarinus officinalis* soit généralement plus efficace, alors que *Juniperus phoenicea* démontre une activité plus spécifique. Ces variations peuvent être dues à la composition chimique distincte de chaque huile, à l'interaction synergique entre les éléments constitutifs et à la réactivité spécifique de chaque souche bactérienne.

Conclusion

Conclusion

Face à l'augmentation inquiétante de la résistance bactérienne aux antibiotiques, la recherche de solutions alternatives naturelles, efficaces et sûres devient une nécessité urgente. Parmi ces alternatives prometteuses, les huiles essentielles extraites de plantes médicinales et aromatiques se distinguent par leur richesse en composés bioactifs. Dans cette optique, notre étude a visé à évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de romarin (*Rosmarinus officinalis*) et de genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) contre quatre souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*, à l'aide des tests de sensibilité déterminant la CMI et la CMB.

Les résultats ont révélé que les deux huiles possèdent une activité antibactérienne significative, avec des degrés d'efficacité variables selon la souche ciblée. L'huile essentielle de romarin a démontré une efficacité large et marquée contre toutes les souches testées, avec des valeurs de CMI et CMB relativement faibles, et un rapport CMB/CMI égal à 1 pour toutes les bactéries, traduisant un effet bactéricide clair. *Staphylococcus aureus* s'est révélée être la souche la plus sensible, suivie de *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*. Même *Pseudomonas aeruginosa*, connue pour sa grande résistance, a été inhibée à une concentration de 25 %.

En revanche, l'huile de genévrier a montré une activité intéressante contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*, mais a échoué à inhiber *Pseudomonas aeruginosa* même à des concentrations supérieures à 25 %, ce qui suggère une résistance potentielle ou une difficulté de pénétration de l'huile à travers la paroi cellulaire complexe de cette souche. Les valeurs de CMI et CMB de cette huile étaient plus élevées que celles de l'huile de romarin, ce qui peut s'expliquer par une concentration plus faible de composés actifs dans sa composition chimique.

Ces résultats confirment le potentiel des huiles essentielles, en particulier celle de *Rosmarinus officinalis*, en tant qu'agents antimicrobiens naturels prometteurs, capables de participer à la lutte contre la prolifération des souches bactériennes résistantes, que ce soit comme traitement direct ou en complément des antibiotiques classiques. Leur faible toxicité et le risque réduit de développement de résistance renforcent leur intérêt thérapeutique.

Cependant, malgré ces résultats encourageants, d'autres recherches s'imposent, notamment pour :

Réaliser une analyse chimique détaillée des composés actifs présents dans chaque huile ;

- Étudier les interactions potentielles (synergie ou antagonisme) entre les huiles essentielles et les antibiotiques.
- Tester leur efficacité dans des conditions biologiques complexes (in vivo), sur des modèles animaux ou cliniques.

Ainsi, ce travail ne constitue pas une fin en soi, mais bien une première étape vers l'intégration raisonnée des plantes médicinales traditionnelles dans la pharmacopée moderne, afin d'offrir des solutions thérapeutiques naturelles, efficaces et sûres face aux défis grandissants de la santé publique.

Références

Références bibliographiques

- Abdelli, N.** (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris* (p. 25).
- Adams, R. P.** (2004). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation. (4th éd., p. 101).
- Adouane, M.** (2015). Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques des extraits de quelques plantes médicinales (p. 117).
- AFNOR NF T 75-006.** (N.d.). Huile essentielle. Association Française de Normalisation. Paris, 559–563.
- Ait Mbarek, H., Ait Mouse, N., Elabbadi, M., Bensalah, A., Gamouh, R., Aboufatima, A., & Benharre, A.** (2007). Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.). Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 40(6).
- Al-Sereiti, M. R., Abu-Amer, K. M., & Sen, P.** (1999). Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. Indian Journal of Experimental Biology, 37(2), 124–1230.
- A. Damerdjji et L. Ladjmi.** (2014). Contribution à l'étude bio-écologique de la faune de *Rosmarinus officinalis* L. (romarin) (Lamiacées) dans la région de Tlemcen (n.-o. algérien) Rev. Ivoir. Sci. Technol., 224 - 243 ISSN 1813-3290, <http://www.revist.ci>
- Amer, M. E., Mikhaeil, B. R., & Doss, S. H.** (1994). Antimicrobial activity of essential oils of selected plants. Egyptian Journal of Microbiology, 29, 237–249.
- Amresh, G., & Singh, P. N.** (2017). Medicinal plants and bioactive natural products. Natural Product Communications, 12(10), 1575–1581.
- Arnold, N., Bellefontaine, A., & Lahfa, F.** (1997). Étude des plantes médicinales de Kabylie (Algérie). Fitoterapia, 68(2), 123–130.
- Ayad, F., & Aymen, L.** (2021). Les plantes médicinales dans la médecine traditionnelle algérienne (p. 42). Éditions Ena.
- Baba Aïa, F.** (2011). Encyclopédie des plantes médicinales d'Algérie (p. 21). Librairie Moderne.

- Bakirel, T., Bakirel, U., Keleş, O. U., Ülgen, S. G., & Yardibi, H.** (2008). In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1), 64–73.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K.** (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barbe, C., Morin, M., & Girard, C.** (2009). Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. *Phytothérapie*, 7(3), 134–139.
- Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R.** (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17(4), 3989–4006.
- Belkacem, A.** (2015). Les plantes médicinales utilisées dans le traitement des infections ORL en Algérie. Éditions universitaires européennes.
- Benfodda, M. H., & Belkhattir, I.** (2019). Étude des propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles. *Revue Algérienne de Biologie*, 11(2), 27–35.
- Benincá, J. P., Dalmarco, E. M., Pizzolatti, M. G., & Fröde, T. S.** (2011). Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice. *Food Chemistry*, 124(2), 468–475.
- Bedi, M., Kaur, H., & Rani, K.** (2004). Antibacterial activity of volatile oils from selected plants. *Asian Journal of Chemistry*, 16(3), 1230–1235.
- Bily Nébié.** (2023). Définition et classification des huiles essentielles selon les pharmacopées. Support de cours, Université Joseph Ki-Zerbo, UFR/SVT.
- Bouaoune, A., & Ghoul, C.** (2024). Étude des effets des huiles essentielles sur les pathogènes alimentaires. *Revue de Biochimie Appliquée*, 18(1), 66–79.
- Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., & Sayadi, S.** (2015). Investigation of antiulcer and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 38(11), 1687–1693. <https://doi.org/10.1248/bpb.b15-00412>.
- Bouchra, C., Achour, S., Idrissi Hassani, L. M., & Amarouch, H.** (2003). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et de *Rosmarinus officinalis* L. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142, 61–78.

- Bouyahya, A., Bakri, Y., & Et-Touys, A.** (2017). Medicinal and aromatic plants targeting cardiovascular diseases: Pharmacological perspectives. *Medicinal Chemistry*, 13(8), 758–770.
- Bouزيد, A., Chadli, R., Bouزيد, K.** (2016). Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie* 15 (6), 373-378.
- Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simões, M.** (2018). Antibacterial activity and mode of action of selected essential oils against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2018/7954359>
- Brill, R., & Leiden, C.** (2010). *Flora of Lebanon and Syria*. Beirut Botanical Press.
- Bruneton, J.** (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3e éd.). Lavoisier.
- Carson, D., Cristani, M., Manuela, D., Giuseppina, M., Francesco.,** (2006). Global variation in copy number in the human genome. *Nature*, 444, 444–454.
- Cristani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., Venuti, V., Bisignano, G., Saija, A., & Trombetta, D.** (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6300–6308.
- Dias, M. I., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R.** (2000). A review of the bioactivity and potential health benefits of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 57, 78–86.
- Dogmos, A., Benmoussa, H., & Chikhoun, A.** (2008). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de plantes sahariennes. *Revue des Plantes Médicinales*, 12(1), 55–62.
- Domaracky, M., Rehak, P., & Juhas, S.** (2007). Antioxidant properties of essential oils from selected medicinal plants. *Journal of Food Safety*, 27(3), 259–266.
- Dordevic, D., Petrovic, S., & Tasic, S.** (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Satureja montana* L. *Journal of Essential Oil Research*, 19(3), 268–273.
- Dorman, H. J. D., & Deans, S. G.** (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–316.
- Edris, A. E.** (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy Research*, 21(4), 308–319.

- Eissa, T. A., Mahfouz, M. E., & Ibrahim, E. H.** (2014). Antibacterial and antioxidant activity of essential oils extracted from some medicinal plants. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(5), 228–232.
- El Haddad, M., Mekonnen, A., & Selmi, S.** (2016). Étude de l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles sur des bactéries multirésistantes. *Journal Africain de Microbiologie*, 10(2), 99–106.
- Emami, S. A., Asili, J., & Tayarani-Najaran, Z.** (2011). Antioxidant and cytotoxic properties of essential oils from Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(4), 835–842.
- Fabian, D., Domaracky, M., Rehak, P., & Koppel, J.** (2006). Effects of essential oils on animal reproduction. *Physiological Research*, 55(Suppl 1), S19–S25.
- Farjon, A., & Filer, D.** (2013). *An atlas of the world's conifers: An analysis of their distribution, biogeography, diversity, and conservation status*. Brill.
- Gaspar, F., & Jeeke, G.** (2004). Essential oil from *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*: Antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Applied Microbiology*, 96(5), 1130–1134.
- Hamza, Z., Manar, I., Souad, L., Eleni, G. P., Soukaina, O., Sara, E., Yedir, O., Rachid, H., Mariam El Ad., & Ahmed, O.** (2021). Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activities of essential oil of *Atriplex semibaccata* R.Br. aerial parts: First assessment against multidrug-resistant bacteria. *Agronomy*, 11(362), 1–14.
- Hellal, Z.** (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus : Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*), (p. 46).
- Himed, L.** (2011). Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Citrus limon : application à la margarine [Mémoire de magistère]. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (INATAA), (p.28).
- Inouye, S., Takizawa, T., & Yamaguchi, H.** (2001). Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(5), 565–573. <https://doi.org/10.1093/jac/47.5.565>
- Jadot, G.** (1994). *Antioxydants et vieillissement*. John Libbey Eurotext.

- José, M., & Fonteau, J. M.** (2008). Le manuel porphyre du préparateur en pharmacie : préparation du BP formation. Wolters Kluwer.
- Kiel, D. P.** (2004). Low CA1 spine synapse density is further reduced by castration in male non-human primates. *Neurobiology of Aging*, 25(4), 503–510.
- Lemes, R. C., Alves, C. C. F., Estevam, E. B. B., Santiago, M. B., Martins, C. H. G., & Dos Santos, T. C. L.** (2018). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Citrus aurantifolia* leaves and fruit peel against oral pathogenic bacteria. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90(2), 1285–1294.
- Laouar, A.** (2018). Exploration de l'impact des extraits naturels d'origine végétale « *Juniperus phoenicea* ». (P,19).
- Lushniak, B. D.** (2014). La résistance aux antibiotiques : une crise de santé publique. *Public Health Reports*, 129(4), 314–316.
- Mariod, A. A., & Tahir, H. E.** (2022). Efficacy of biologically active agents and antagonistic yeast to control the incidence of postharvest diseases: A meta-analysis and meta-regression. *Biological Control*, 172, Article 104987. <https://www.sciencedirect.com/journal/biological-control/vol/172/suppl/C>
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V.** (2017). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>
- Peter, P.** (2004). Médicaments, drogues et poisons : ambivalences. *Ethnologie française*, 34(3), 407–409.
- Qaiyumi, S.** (2007). Méthodes de macrodilution et de microdilution pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens. Dans *Protocoles de test de sensibilité aux antimicrobiens* (p. 75–79). Éditions de l'OMS.
- Rather, M. A., Dar, B. A., Sofi, S. N., Bhat, B. A., & Qurishi, M. A.** (2021). Biological activities of essential oils and their constituents from aromatic and medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 268, 113578. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113578>
- Sara Burt.** (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.

Schwalbe, R., Steele-Moore, L., & Goodwin, A. C. (2007). Protocoles de test de sensibilité aux antimicrobiens. CRC Press.

Suppi, S., Kasemets, K., Ivask, A., Künnis-Beres, K., Sihtmäe, M., Kurvet, I., Aruoja, V., & Kahru, A. (2015). Méthode innovante de comparaison des propriétés biocides des nanomatériaux sur les bactéries, les levures et les algues. *Journal of Hazardous Materials*, 286, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.027>

Suzuki, S., et al. (1953). L'administration antérieure de rifampicine détermine la résistance aux rifabutines chez *Helicobacter pylori*. *Digestion*, 79(1), 1–4.

Wan, J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 152–158.

Wayne, P. A. (2010). Institut des normes cliniques et de laboratoire (CLSI) : Normes de performance pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens. 31 (1), 33-41.

Weinstein, M. P. (2018). Méthodes de dilution pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens des bactéries aérobies. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 67, Issue 6, 15 septembre 2018, P 1 – 94, <https://doi.org/10.1093/cid/ciy381>

ملخص

في هذه الدراسة، قمنا بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لزيوت إكليل الجبل المستخلصة بالتقطير البخار من نباتات طبية محلية إكليل الجبل والعرعار (*J. phoenicea*) و (*R. officinalis*) وقد تم اختبار تأثيرها على أربع سلالات بكتيرية هي:

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis*.

استُخدمت طريقتان لتقييم هذا النشاط طريقة النشر على وسط آغار لقياس أقطار مناطق التثبيط وطريقة التخفيضات المتسلسلة في وسط سائل لتحديد كل من (CMI) و (CMB)

أظهرت النتائج أن زيت العرعار كان أكثر فعالية ضد *S. aureus* و *B. subtilis* بينما أظهر زيت إكليل الجبل نشاطاً أكبر ضد *E. coli* تؤكد هذه النتائج قدرة هذه الزيوت على العمل كمضادات ميكروبية طبيعية واعدة.

الكلمات المفتاحية

النشاط المضاد للبكتيريا، الزيوت العطرية، إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*) ، العرعار (*Juniperus phoenicea*) ،

التركيز القاتل الأدنى (CMB)، التركيز المثبط الأدنى (CMI) *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*

Résumé

Dans ce travail, nous avons évalué l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Juniperus phoenicea*, extraites par distillation à la vapeur d'eau à partir de plantes médicinales locales. Les essais ont été réalisés sur quatre souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*.

Deux méthodes ont été utilisées pour évaluer cette activité : la diffusion sur gélose, qui permet de mesurer les diamètres des zones d'inhibition et la microdilution en milieu liquide, pour déterminer la (CMI) et la (CMB).

Les résultats ont montré que l'huile essentielle de genévrier était particulièrement efficace contre *S. aureus* et *B. subtilis*, tandis que celle de romarin a présenté une meilleure activité contre *E. coli*. Ces observations confirment le potentiel des huiles essentielles étudiées comme agents antimicrobiens naturels prometteurs.

Mots clés :

Activité antibactérienne, Huiles essentielles, *Rosmarinus officinalis*, *Juniperus phoenicea*, CMI, CMB, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*.

Abstract

In this study, we evaluated the antibacterial activity of essential oils extracted from *Rosmarinus officinalis* and *Juniperus phoenicea*, through steam distillation of local medicinal plants. The antibacterial activity was tested against four bacterial strains: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus subtilis*.

Two methods were used: Agar diffusion, to measure the diameters of inhibition zones, Liquid broth microdilution, to determine (MIC) and (MBC).

The results showed that juniper oil was more effective against *S. aureus* and *B. subtilis*, while rosemary oil showed stronger activity against *E. coli*. These findings confirm the potential of these essential oils as promising natural antimicrobial agents.

Keywords:

Antibacterial activity, Essential oils *Rosmarinus officinalis* (rosemary), *Juniperus phoenicea* (juniper), Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*.

