

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed Khider Biskra

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



N°ordre :

Série :

THÈSE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT LMD EN SCIENCES
BIOLOGIQUES

OPTION : VALORISATION ET CONSERVATION DES RESSOURCES
NATURELLES

Présentée par : MECHAALA Sara

THÈME

Etude ethnobotanique et détermination du pouvoir inhibiteur des huiles essentielles de deux plantes médicinales de la région de Biskra sur des bactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu isolées à partir du lait cru et du babeurre

Soutenue le : 20 /10 / 2021

Devant le jury composé de :

SALHI Nasrine	Professeur	Présidente	Université de Ouargla
BOUATROUS Yamina	Professeur	Rapporteur	Université de Biskra
BOUSBA Ratiba	M C A	Examinatrice	Université de Canstantine
HADJEB Ayoub	M C A	Examinateur	Université de Biskra
REDOUANE-SALAH Sara	M C A	Examinatrice	Université de Biskra

Année universitaire 2020-2021

Dédicace

A mes très chers parents

A tous ceux qui me sont chers

A tous les amoureux de la nature et de la microbiologie

Je dédie ce travail

Remerciement

En premier lieu, je remercie Allah le Tout Puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

*Je tiens à remercier Madame **BOUATROUS Yamina**, Professeur à l'université de Mohamed khider, Biskra, ma directrice de thèse. Qu'elle trouve ici l'expression de ma très vive reconnaissance pour sa disponibilité, son aide, ses conseils, ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humaines.*

*Je tiens à remercier également Madame **SALHI Nasrine**, Professeur à l'université Kasdi Merbah, Ouargla qui a accepté de présider le jury, c'est un honneur pour moi de la voir siéger parmi les membres de jury de cette thèse.*

*Je voudrais exprimer ma gratitude à madame **BOUSBA Ratiba**, MCA à l'université de Canstantine, monsieur **HADJEB Ayoub**, MCA à l'université de Biskra et madame **REDOUANE-SALAH Sara**, MCA à l'université de Biskra qu'ils m'ont fait l'honneur en acceptant d'examiner ce travail.*

*Je tiens à remercier également professeur **Ramzan Erlner**, Directeur du Laboratoire de Biotechnologie Microbienne de l'Université de Tokat, Turquie.*

*Je réserve une attention toute particulière à monsieur **Oudjehih Bachir**, Professeur à l'université de Batna 1 pour sa contribution à l'identification des plantes Médicinales.*

*Mes remerciements s'adressent également à monsieur **Kerkoud Mohamed**, directeur du laboratoire DIAG-GENE (Angers, France), je le remercie pour sa disponibilité pendant la réalisation du travail.*

*Mes vifs remerciements vont aussi à Madame **Djeradi Wafa**, et à Monsieur **Benaïssa Maheydine**, chef de service à l'EPSP de Batna, d'avoir fait tout l'effort pour m'intégrer au laboratoire de Microbiologie à l'EPSP de Batna.*

J'adresse également un grand merci aux techniciens du laboratoire à l'université de Biskra et à l'université de Batna 1.

*Je ne peux remercier tous cela sans parler des collègues en particulier **RAHALI Maha**, **CHERAK Zineb**, **KHOUNI Samia**, **RADJAH Abir**, **HEFAIED Rachida**, **BENBRAHIM Chahla**, **ZAATOUT Asma** et **ZAATOUT Nawel**. Travailler avec vous était un plaisir depuis toutes ces années.*

C'est avec émotion que je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude est de documenter les savoirs autochtones, de valoriser la diversité floristique de la région d'El Kantara pour établir un catalogue de plantes médicinales traditionnelles utilisées en phytothérapie et dans le domaine alimentaire utile pour les recherches pharmacologiques ultérieures, de mettre en évidence le risque alimentaire de la prévalence des *Enterobacteriaceae* productrices de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) résistantes à travers le lait cru et le babeurre, et d'évaluer l'effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et de *Thymus algeriensis* contre les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE du lait cru et du babeurre. L'enquête ethnobotanique a collecté des données sociodémographiques et des connaissances traditionnelles sur les plantes médicinales. Les données recueillies lors de l'entrevue structurée ont été analysées à l'aide des indices quantitatifs en termes de valeur de l'utilisation de l'espèce (VU), de facteur de consensus informateur (FCI) et du niveau de fidélité (NF). L'identification moléculaire des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE et les gènes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M} codant pour la résistance ont été étudiés par PCR et séquençage. La composition chimique des huiles a été réalisée par CPG-SM. L'activité antibactérienne a été testée par la méthode de diffusion sur disque et par microdilution.

Au total, 95 informateurs ont rapporté 60 plantes médicinales appartenant à 29 familles botaniques, dont onze espèces ont des utilisations alimentaires. *Asteraceae* est la famille la plus dominante (21,66%). *Artemisia herba-alba* Asso est la plus fréquemment utilisée par la population locale avec une VU la plus élevée de 1,26. Les troubles du système gastro-intestinal et les maladies du système cardiovasculaire avaient le FCI le plus élevé (0,94). L'espèce la plus commune *Paronychia argentea* Lam. utilisée pour les troubles rénaux présente un degré de fidélité de 100%. Dix-neuf *Enterobacteriaceae* résistantes à la ceftazidime ont été identifiées (6 isolées à partir du lait cru et 13 à partir du babeurre); douze d'entre eux ont été confirmées comme des producteurs de BLSE. (36,36%, 4) des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE sont isolées du lait cru. Tandis que (63,63%, 7) sont détectées au babeurre. La PCR a révélé que *bla*_{SHV} (75%, 3) est le gène le plus courant, suivi du gène *bla*_{TEM} (50%, 2) et du gène *bla*_{CTX-M} (25%, 1) dans le lait cru, alors que *bla*_{TEM} (87,5%, 7) est le gène le plus courant, suivi du gène *bla*_{CTX-M} (75%, 6) et enfin du gène *bla*_{SHV} (50%, 4) dans le babeurre. Le séquençage des gènes a révélé les gènes *bla*_{TEM-1D}, *bla*_{TEM-104}, *bla*_{SHV-1} et *bla*_{SHV-11}. Les résultats de la CPG-SM ont montré 31 et 35 composés pour *Artemisia herba-alba* et *Thymus algeriensis* respectivement. *Klebsiella pneumonia* SB6 (17,04 mm pour *Artemisia herba-alba* et 16,22 mm pour *Thymus algeriensis*) a révélé les

zones d'inhibition les plus élevées. Les valeurs de la CMI sont de 1,56 à 25 mg/mL et celles de CMB sont de 6,25 à 50 mg/mL des deux huiles essentielles.

Mots clés: Ethnobotanique, BLSE, *Enterobacteriaceae*, lait cru, babeurre, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *Artemisia herba-alba*, *Thymus algeriensis*.

SUMMARY

The aim of this study is to document the indigenous knowledge and to valorize the floristic diversity of El Kantara area to establish a catalog of traditional medicinal plants used in phytotherapy and the food field useful for subsequent pharmacological research, to highlight the dietary risk of the prevalence of *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum β -lactamase (ESBL) resistant through raw milk and buttermilk, besides evaluating the effect of *Artemisia herba-alba* and *Thymus algeriensis* essential oils against *bla*_{ESBL} producing *Enterobacteriaceae* from raw milk and buttermilk. Ethnobotanical surveys collected sociodemographic data and traditional knowledge of medicinal plants. The data collected through the structured interview was analyzed using quantitative indices in terms of the value of the use of the species (UV), informant consensus factor (ICF), and fidelity level (FL). Molecular identification of ESBL producing *Enterobacteriaceae* and *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M} genes encoding resistance were investigated by PCR and sequencing. The chemical composition of oils was carried out by GC/MS. Antibacterial activity was tested by disc diffusion and microdilution methods.

A total of 95 informers reported 60 medicinal plants belonging to 29 botanical families of which eleven species have food uses. *Asteraceae* was the most common family (21.66%). *Artemisia herba-alba* Asso was the most frequently used by the local population, with the highest UV of 1.26. Gastrointestinal system disorders and cardiovascular system diseases had the highest ICF (0.94). The most common species *Paronychia argentea* Lam. used for kidney disorders with a degree of fidelity of 100%. Nineteen ceftazidime-resistant *Enterobacteriaceae* were identified (6 from raw milk and 13 from buttermilk); twelve of them were confirmed as ESBL producers, (36.36%, 4) of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* are isolated from raw milk, while (63.63%, 7) are detected from the buttermilk. Chain Reaction assay revealed that *bla*_{SHV} (75%, 3) were the most common gene, followed by the *bla*_{TEM} gene (50%, 2) and the *bla*_{CTX-M} gene (25%, 1) in raw milk, while, *bla*_{TEM} (87.5%, 7) were the most common gene, followed by the *bla*_{CTX-M} gene (75%, 6) and finally the *bla*_{SHV} gene (50%, 4) in buttermilk. The sequencing of genes revealed *bla*_{TEM-1D}, *bla*_{TEM-104}, *bla*_{SHV-1}, and *bla*_{SHV-11}. The results of GC/MS analysis gave 31 and 35 compounds for *Artemisia herba-alba* and *Thymus algeriensis* respectively. *Klebsiella pneumonia* SB6 (17.04 mm for *Artemisia herba-alba* and 16.22 mm for *Thymus algeriensis*) revealed the highest zones of inhibition. MIC values were 1.56–25 mg/mL in both essential oils, while the MBC values were 6.25–50 mg/mL in both essential oils.

Keywords: Ethnobotany, ESBL, *Enterobacteriaceae*, raw milk, buttermilk, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *Artemisia herba-alba*, *Thymus algeriensis*.

الملخص

تهدف هذه الدراسة لتوثيق المعارف المحلية وتثمين التنوع النباتي في منطقة القنطرة لإنشاء دليل من النباتات الطبية التقليدية المستعملة في التداوي بالأعشاب و في مجال الغذاء المفيد للأبحاث المستقبلية في علم الدواء، ولتسليط الضوء على المخاطر الغذائية لانتشار البكتيريا المعوية التي تنتج البيتاالاكتاماز ذات المدى الواسع المقاومة للأدوية المستخرجة من الحليب الخام واللبن، ولتقييم تأثير الزيوت العطرية لـ *Artemisia herba-alba* و *Thymus algeriensis* ضد البكتيريا المعوية التي تنتج البيتاالاكتاماز ذات المدى الواسع المستخرجة من الحليب الخام واللبن.

الاستطلاعات الاثنوبنائية جمعت البيانات الاجتماعية والديموغرافية والمعارف التقليدية من النباتات الطبية. تم تحليل البيانات التي تم جمعها من خلال المقابلة المنظمة باستخدام مؤشرات كمية من حيث قيمة استخدام النوع، وعامل إجماع المخبرين، ومستوى الإخلاص. تم التعرف الجزيئي لـ البكتيريا المعوية التي تنتج إنزيمات البيتاالاكتاماز ذات المدى الواسع، والمورثات *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M} التي تشفر للمقاومة بواسطة تفاعل البوليمراز المتسلسل والتسلسل الجيني. تم التعرف على التركيب الكيميائي للزيوت بواسطة كروماتوغرافيا الغاز مقرونة بمقياس الطيف الكتلي. في حين تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا عن طريق تقنية الانتشار على القرص وطرق التخفيف الدقيق.

أفاد ما مجموعه 95 مخبراً بوجود 60 نبتة طبية تنتمي إلى 29 عائلة نباتية منها أحد عشر نوعاً لها استخدامات غذائية. *Asteraceae* هي العائلة الأكثر شيوعاً (21,66%). في حين أن *Artemisia herba-alba* Asso هي الأكثر استخداماً من قبل السكان المحليين، حيث بلغت قيمة الاستخدام الأعلى 1,26. كان لاضطرابات الجهاز الهضمي وأمراض الجهاز القلبي الوعائي أعلى نسبة لعامل إجماع المخبرين (0,94). أكثر الأنواع شيوعاً *Paronychia argentea* Lam يستخدم لاضطرابات الكلى بمستوى الاخلاص 100%.

تم تحديد تسعة عشر نوع من البكتيريا المعوية المقاومة للسيفتازيديم (6 مستخرجة من الحليب الخام و13 مستخرجة من اللبن)؛ تم التأكد من أن اثنا عشر نوع منهم منتج للبيتاالاكتاماز ذات المدى الواسع، (36,36%)، (4 من البكتيريا المعوية المنتجة للبيتاالاكتاماز ذات المدى الواسع معزولة من الحليب الخام، بينما تم الكشف عن (63,63%)، (8 من البكتيريا المعوية المنتجة للبيتاالاكتاماز ذات المدى الواسع معزولة من اللبن. أظهر اختبار تفاعل البوليمراز المتسلسل أن *bla*_{SHV} (75%)، (3 هي المورثة الأكثر شيوعاً، تليها مورثة *bla*_{TEM} (50%)، (2 ثم مورثة *bla*_{CTX-M} (25%)، (1 في الحليب الخام. بينما في اللبن كانت *bla*_{TEM} (87,5%)، (7 هي المورثة الأكثر شيوعاً، تليها مورثة *bla*_{CTX-M} (75%)، (6 وأخيراً مورثة *bla*_{SHV} (50%)، (4 بالنسبة للبن. كشف تسلسل الجينات عن وجود المورثات *bla*_{TEM-ID} و *bla*_{TEM-104} و *bla*_{SHV-1} و *bla*_{SHV-11}.

كشفت نتائج تحليل كروماتوغرافيا الغاز مقرونة بمقياس الطيف الكتلي عن وجود 31 و35 مركباً لكل من *Artemisia herba-alba* و *Thymus algeriensis* على التوالي. بالنسبة لتقنية الانتشار على القرص أظهرت النتائج أن *Klebsiella pneumonia* SB6 (17,04) ملم بالنسبة لـ *Artemisia herba-alba* و 16,22 ملم بالنسبة لـ *Thymus algeriensis* لها أعلى قيم التثبيط. كانت قيم الحد الأدنى للتركيز المثبط من 1,56 إلى 25 مغ/مل، في حين أن قيم الحد الأدنى للتركيز مبيد البكتيريا من 6,25 إلى 50 مغ/مل في كلا الزيتين الأساسيين.

الكلمات المفتاحية: اثنوبنائية، البيتاالاكتاماز ذات المدى الواسع، البكتيريا المعوية، الحليب الخام، اللبن، *bla*_{SHV}، *bla*_{TEM}، *Thymus algeriensis*، *Artemisia herba-alba*، *bla*_{CTX-M}

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Table des matières

Introduction 1

Chapitre I : Partie bibliographique

I.1. Les huiles essentielles	3
I.1.1. Généralités	3
I.1.2. Composition chimique des huiles essentielles	3
I.1.2.1. Les terpènes	3
I.1.2.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane	6
I.1.2.3. Les composés d'origine diverses	7
I.1.4. Les facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles	7
I.1.4.1. Facteur endogène	7
I.1.4.2. Facteur exogène.....	7
I.1.4.3. Facteur technologique.....	8
I.1.5. Mode d'action des huiles essentielles sur les microorganismes	8
I.1.6. Les procédés d'extraction des huiles essentielles	10
I.1.6.1. Extraction par distillation	10
I.1.6.2. Enfleurage	11
I.1.6.3. Extraction par expression à froid	11
I.1.6.4. Extraction par les solvants organiques	11
I.1.6.5. Extraction par le CO ₂	12
I.1.6.6. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes	12
I.2. Médecine traditionnelle et ethnobotanique	13
I.2.1. Médecine traditionnelle.....	13
I.2.2. Phytothérapie.....	13
I. 2.3. Ethnobotanique	13
I.3. Le lait	14
I.3.1. Définition.....	14
I.3.2. Composition chimique du lait	14

I.3.2.1. L'eau.....	15
I.3.2.2. Glucide de lait	15
I.3.2.3. La matière grasse	15
I.3.2.4. Matière azotée et protéine	16
I.3.2.5. Les minéraux.....	17
I.3.2.6. Les vitamines	17
I.3.2.7. Les enzymes.....	18
I.3.3. Propriétés physico-chimiques du lait.....	19
I.3.3.1. pH	19
I.3.3.2. Acidité du lait.....	19
I.3.3.3. Conductivité électrique	19
I.3.3.4. Densité	19
I.3.3.5. Point de congélation	20
I.3.3.6. Point d'ébullition	20
I.3.4. Qualité organoleptique du lait	20
I.3.4.1. La saveur	20
I.3.4.2. La couleur.....	20
I.3.5. Source de contamination du lait	21
I.3.6. Microbiologie du lait	21
I.3.6.1. Flore originelle ou lactique.....	21
I.3.6.2. Flore de contamination	22
I.4. Le babeurre.....	23
I.4.1. Définition.....	23
I.4.2. Préparation du babeurre	23
I.4.2.1. Préparation traditionnelle	23
I.4.2.2. Préparation industrielle	24
I.4.3. Composition et caractéristique physico-chimique du babeurre.....	25
I.4.4. Source de contamination du babeurre.....	25
I.4.5. La microbiologie du babeurre	25
I.4.5.1. La flore utile du babeurre	25
I.4.5.2. La flore nuisible.....	26
I.5. Résistance aux β -lactamines.....	26

I.5.1. Les β -lactamines	26
I.5.2. Groupe des β -lactamines	27
I.5.3. Mode d'action des β -lactamines	28
I.5.4. Mécanisme de résistance aux β -lactamines	28
I.5.4.1. Modification des PLPs.....	28
I.5.4.2. Diminution de l'expression des protéines de la membrane externe (PME).....	29
I.5.4.3. Hyperproduction du système d'efflux	29
I.5.4.4. Production de β -lactamases	29
I.5.5. Classification des β -lactamases	29
I.5.5.1. β -lactamases à spectre étendu	31
I.5.5.2. β -lactamases de classe C	33
I.5.5.3. Carbapénémases	33
I.6. Aperçu sur les plantes utilisée	34
I.6.1. <i>Artemisia herba-alba</i> Asso	34
I.6.1.1. Nomenclature	34
I.6.1.2. Description botanique.....	34
I.6.1.3. Répartition géographique	34
I.6.1.4. Utilisation traditionnelle	35
I.6.1.5. Classification.....	35
I.6.1.6. Données pharmacologiques	36
I.6.2. <i>Thymus algeriensis</i> Boss. & Reut.	36
I.6.2.1. Nomenclature	36
I.6.2.2. Description botanique.....	36
I.6.2.3. Répartition géographique	37
I.6.2.4. Utilisation traditionnelle	37
I.6.2.5. Classification.....	37
I.6.2.6. Données pharmacologiques	38

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Cadre de l'étude	39
II.2. Lieux des analyses.....	39
II.3. Etude ethnobotanique.....	40
II.3.1. Présentation du site d'étude.....	40

II.3.2. Déroulement de l'enquête.....	41
II.3.3. Identification taxonomique.....	42
II.3.4. Analyse des données.....	42
II.3.4.1. La valeur d'usage (VU).....	42
II.3.4.2. Facteur de consensus des informateurs (FCI).....	42
II.3.4.3. Niveau de fidélité (NF).....	43
II.4. Etude de la résistance aux antibiotiques.....	43
II.4.1. Échantillonnage.....	43
II.4.2. Isolement des bactéries productrices de BLSE.....	43
II.4.3. Identification moléculaire des isolats producteurs de BLSE.....	44
II.4.3.1. L'extraction d'ADN bactérien.....	44
II.4.3.2. La quantification de l'ADN.....	45
II.4.3.3. L'amplification du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S.....	45
II.4.3.4. Electrophorèse des produits d'amplification.....	46
II.4.3.5. Purification des produits PCR.....	47
II.4.3.6. Séquençage.....	48
II.4.3.7. Analyse des séquences.....	50
II.4.4. Mise en évidence des gènes de résistance.....	50
II.4.4.1. Test de sensibilité aux antibiotiques.....	50
II.4.4.2. Confirmation phénotypique des souches bactériennes productrices de BLSE.....	51
II.4.4.3. Identification moléculaire des gènes de résistance (<i>bla</i> _{CTX-M} , <i>bla</i> _{SHV} et <i>bla</i> _{TEM}).....	51
II.5. Extraction et analyse des principes actifs.....	53
II.5.1. Matériel végétal.....	53
II.5.2. Extraction des huiles essentielles.....	53
II.5.3. Détermination du rendement des huiles essentielles.....	54
II.5.4. Effet des huiles essentielles sur les <i>Enterobacteriaceae</i> productrices de BLSE.....	54
II.5.4.1. Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	54
II.5.4.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	55
II.5.4.3. Détermination de la Concentration Minimale bactéricide (CMB).....	55
II.5.5. Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM).....	55
II.6. Etude statistique.....	56

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Etude ethnobotanique	57
III.1.1 . Diversité des plantes médicinales	67
III.1.3. Parties utilisées.....	68
III.1.4. Profil sociodémographique des informateurs	69
III.1.4.1. Utilisation des plantes médicinales selon le sexe	69
III.1.4.2. Utilisation des plantes médicinales selon l'âge	70
III.1.4.3. Utilisation de plantes médicinales selon le niveau d'éducation	71
III.1.5. Utilisation des plantes médicinales dans la région d'El Kantara	72
III.1.6. La valeur d'usage (VU).....	73
III.1.7. Facteur de consensus des informateurs (FCI).....	74
III.1.8. Le niveau de fidélité (NF)	76
III.1.9. Nouveaux rapports et nouvelles utilisations	77
III.1.10. Plantes médicinales utilisées dans le domaine alimentaire.....	80
III.1.10.1. Arôme et flaveur.....	84
III.1.10.2. Fabrication du fromage.....	84
III.1.10.3. Conservation du lait et extraction du beurre.....	85
III.2. Etude de la résistance aux antibiotiques.....	86
III.2.1. Caractérisation de l'identification des souches bactériennes.....	86
III.2.1.1. Amplification du gène codant l'ARNr 16S.....	86
III.2.1.2. Alignement des séquences de l'ARNr 16S et identification	87
III.2.1.3. Construction de l'arbre phylogénétique.....	88
III.2.1.3. Répartition des isolats selon la nature des échantillons.....	90
III.2.2. Antibio-résistance des isolats.....	93
III.2.2.1. Profils de résistance aux antibiotiques des isolats du lait cru	93
III.2.2.2. Profils de résistance aux antibiotiques des isolats du babeurre.....	94
III.2.3. Détection phénotypique et moléculaire des producteurs de BLSE.....	96
III.2.3.1. Répartition des <i>Enterobacteriaceae</i> productrices de BLSE selon la nature des échantillons	98
III.3. Extraction et analyse des principes actifs	102
III.3.1. Extraction des huiles essentielles.....	102
III. 3.2. Composition chimique des huiles essentielles	102
III. 3.3. Effet des huiles essentielles sur les souches bactériennes	109

III. 3.3.1. Détermination des zones d'inhibition par la méthode de diffusion sur disque	109
II. 3.3.2. Détermination de la CMI et de la CMB	111
Conclusion et perspective.....	105
Références bibliographiques	107
Annexes	

Liste des abréviations

ADN : Acide DésoxyRibonucléique	IRT : inhibiteur résistant au TEM
AFNOR : Association française de normalisation	KPC : <i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
AmpC : Céphalosporinases	Kg : kilogramme
ARN : Acide RiboNucléique	L : litre
ATP : Adénosine triphosphate	LPS : lipopolysaccharide
BET : Bromure d'éthidium	m/z : masse/charge
BLSE : β -lactamase à spectre étendu	MBL : métallo- β -lactamase
CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie	mg : Milligramme.
CMB : Concentration Minimale Bactéricide	min : minute
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice	mL : millilitre
CPG : Chromatographie en phase gazeuse	mm : millimètre
CTX-M : Céfotaxime Munich	mM : milliMolaire
ddNTP : didésoxyribonucléotide	μg : microgramme
dNTP : désoxycloside triphosphate	μL : microlitre
DMSO : Dimethyl sulfoxide	μM : microMolaire
EDTA : Acide éthylènediamine tétra-acétique	μm : micromètre
eV : électronvolt	NDM : New-Delhi Métallo-B-lactamase
FAO : Food and Agriculture Organization	NF : Niveau de Fidélité
FCI : Facteur de Consensus des Informateurs	ng : nanogramme
g : gramme	nm : nanomètre
×g : gravité	Nru : nombre de rapports d'utilisation
CPG-SM : Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse	Nt : nombre de taxons
PCR : Polymerase Chain Reaction	OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
	OXA : Oxacillinase
	pH : potentiel Hydrogène

PLP : Protéines Liant la Pénicilline

PME : Protéines de la Membrane Externe

Rd : Rendement

IR : Indices de Rétention

rpm : rotations par minute

SD : Standard Deviation

sec : seconde

SHV : Sulfhydryl variable

TBE : Tris-BorateEDTA

TEM : Temoniera : nom du malade chez qui la première souche a été isolée

tR : temps de Rétention

TSI : Triple Sugar Iron agar

UFC : Unité Formant Colonie

UV : Ultra-Violet

pb : paire de bases

VIM : Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase

VU : Valeur d'Usage

Nru : nombre de rapports d'utilisation

Nt : nombre de taxons

% : pourcent

°C : Degré celsius

Liste des tableaux

Tableau 1. Composition chimique moyenne du lait de différentes espèces (g/L)	14
Tableau 2. Profil d'acide gras de la matière grasse du lait	16
Tableau 3. Principales vitamines présentes dans le lait cru de vache	18
Tableau 4. Classification des β lactamases	30
Tableau 5. Mélange réactionnel utilisé dans la mixture PCR pour la recherche du gène codant l'ARNr 16S	46
Tableau 6. Composition du mélange réactionnel pour la PCR BigDye®.....	49
Tableau 7. Amorces utilisées pour l'amplification des gènes de résistance	52
Tableau 8. Mélange réactionnel utilisé dans la mixture PCR pour la recherche des gènes à BLSE	53
Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara	58
Tableau 10. Valeurs du facteur de consensus informatif (FCI) des maladies de catégorie	75
Tableau 11. Niveau de fidélité (FL) des dix plantes médicinales les plus citées.....	77
Tableau 12. Utilisations non documentées des plantes médicinales dans la région d'El Kantara	79
Tableau 13. Utilisation de plantes sauvages dans le domaine alimentaire	81
Tableau 14. Liste des souches bactériennes isolées à partir du lait cru et du babeurre	90
Tableau 15. Composition chimique (%) de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i>	104
Tableau 16. Composition chimique (%) de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i>	107
Tableau 17. Diamètre (mm) des zones d'inhibition et sensibilité des souches bactériennes aux huiles essentielles d' <i>Artemisia herba-alba</i> et <i>Thymus algeriensis</i>	110
Tableau 18. Les valeurs de CMI et de CMB des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba-alba</i> et de <i>Thymus algeriensis</i>	112

Liste des figures

Figure 1. Structure de l'isoprène (C ₅ H ₈).....	3
Figure 2. Classification des terpènes selon le nombre de carbone	4
Figure 3. Classe des monoterpènes	5
Figure 4. Exemple de sesquiterpènes	6
Figure 5. Mode d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne	9
Figure 6. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes	12
Figure 7. Structure chimique des antibiotiques de la famille des β-lactamines	27
Figure 8. Photographie d' <i>Artemisia herba-alba</i> Asso.....	35
Figure 9. Photographie de <i>Thymus algeriensis</i> Boss. & Reut.	37
Figure 10. Localisation de la zone d'étude	40
Figure 11. Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie.....	51
Figure 12. Les familles botaniques des plantes médicinales les plus trouvées	67
Figure 13. Méthodes de préparation des plantes médicinales	68
Figure 14. Parties utilisées de plantes médicinales	69
Figure 15. Utilisation des plantes médicinales selon le sexe	70
Figure 16. Utilisation des plantes médicinales selon l'âge	71
Figure 17. Utilisation des plantes médicinales selon le niveau d'éducation.....	72
Figure 18. Diagramme de Venn montrant l'utilisation des plantes médicinales dans la région d'El Kantara.....	73
Figure 19. Electrophorèse sur gel d'agarose de l'amplification par PCR du gène codant l'ARNr 16S des isolats.....	86
Figure 20. Analyse phylogénétique des séquences du gène 16SrRNA des isolats par MEGA-X. L'arbre phylogénétique construit était calculé par la méthode du Neighbor-Joining à l'aide du modèle de substitution de paramètres Kimura-2 en utilisant la valeur de bootstrap de 1000 répétitions.....	89
Figure 21. Répartition des <i>Enterobacteriaceae</i> résistantes à la ceftazidime isolées du lait cru.	90
Figure 22. Répartition des <i>Enterobacteriaceae</i> résistantes à la ceftazidime isolées du Babeurre	91

Figure 23. Fréquence de résistance aux antibiotiques des <i>Enterobacteriaceae</i> isolées à partir du lait cru.....	93
Figure 24. Fréquence de résistance aux antibiotiques des <i>Enterobacteriaceae</i> isolées à partir du babeurre.....	94
Figure 25. Test de synergie positif d'une souche productrice de BLSE.	96
Figure 26. Electrophorèse sur gel d'agarose de l'amplification par PCR des gènes SHV, CTX-M et TEM des isolats. M : marqueur d poids moléculaire (Smart ladder Eurogentec, France).97	97
Figure 27. Répartition des <i>Enterobacteriaceae</i> productrices de BLSE selon la nature de l'échantillon.....	98
Figure 28 Répartition des gènes de BLSE sur les isolats du lait cru.....	99
Figure 29. Répartition des gènes de BLSE sur les isolats du babeurre.	100
Figure 30. Chromatogramme de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> analysées par CPG-SM.....	105
Figure 31. Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> analysées par CPG-SM.....	109

Introduction

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 4000 millions de personnes utilisent les plantes médicinales. Elles sont une ressource naturelle et précieuse pour l'humanité, sont considérées comme une source riche en composés bioactifs et des matières premières importantes pour de nombreuses industries.

La recherche sur les pratiques traditionnelles des plantes médicinales a obtenu une attention considérable au sein des institutions scientifiques (Bibi *et al.*, 2014) ; les utilisations médicinales indigènes peuvent fournir des informations précieuses pour la découverte de nouveaux médicaments efficaces (Chander *et al.*, 2014). Plusieurs produits naturels actifs ont été découverts à partir des plantes médicinales sur la base d'une enquête ethnobotanique (Boudjelal *et al.*, 2013). L'ethnobotanique joue un rôle important dans la compréhension des relations dynamiques entre la diversité biologique, les systèmes sociaux et culturels (Ahmad *et al.*, 2014). La documentation des connaissances traditionnelles sur les plantes médicinales à travers des enquêtes ethnobotaniques est importante pour que ces connaissances précieuses ne soient perdues après la mort de ses anciens gardiens secrets et pour valoriser la flore médicinale et aromatique. De plus, les études sur l'ethnobotanique sont très importantes en raison de l'importante partie sanitaire et économique de la biodiversité que signifient les plantes médicinales (Nawash *et al.*, 2013).

L'émergence de la multirésistance aux antibiotiques est actuellement l'un des problèmes de santé publique le plus élevé. L'un de ces mécanismes de résistance actuellement le plus importants chez les *Enterobacteriaceae* ; la production de β lactamases telles que les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) qui contribuent à une large résistance des *Enterobacteriaceae* (El Salabi *et al.*, 2013). Bien que l'apport relative du secteur laitier à la dissémination des résistants aux antibiotiques soit encore controversé, l'environnement de la ferme laitière constituent d'importants réservoirs des *Enterobacteriaceae* produisant des BLSE, de nombreux chercheurs ont montré que le lait et ses dérivés fournissent un véhicule de résistance aux antimicrobiens chez les *Enterobacteriaceae* (Straley *et al.*, 2005 ; Sudarwanto *et al.*, 2015 ; Tepeli et Zorba, 2018 ; Yaici *et al.*, 2019).

L'incidence dans laquelle les agents pathogènes produisant la BLSE d'origine alimentaire sont détectés dans les produits laitiers pasteurisés (Ghazaei, 2019) indique que la pasteurisation n'est pas l'outil ultime pour éliminer la résistance des bactéries du lait et de ses dérivés. Les sources naturelles antibactériennes telles que les huiles essentielles sont efficaces

contre les bactéries résistantes (Benameur *et al.*, 2018; Sayout *et al.*, 2019), elles peuvent présenter une forte activité de conservation contre la détérioration des produits laitier (Ben Jemaa *et al.*, 2017), sont généralement considérées plus sécuritaire que les conservateurs chimiques (Ju *et al.*, 2019), et ont le potentiel de bio-conservateurs efficaces dans ce secteur (Olmedo *et al.*, 2013; Selim, 2011). Parmi les huiles essentielles susceptibles d'améliorer la durée de conservation des produits laitiers, *Artemisia herba-alba* et *Thymus algeriensis* appartenant respectivement à la famille des *Asteraceae* et des *Lamiaceae* qui présentent une forte activité antibactérienne (Fadli *et al.*, 2016 ; Rezzoug *et al.*, 2019).

Dans ce contexte, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Documenter les connaissances indigènes et mettre en évidence la diversité floristique pour établir un catalogue de plantes médicinales utilisées traditionnellement et utiles pour les recherches pharmacologiques ultérieures.
- Déterminer le risque potentiel de la prévalence des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE à l'Homme à partir du lait cru et du babeurre non pasteurisé.
- Mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles des deux plantes ; *Artemisia herba-alba* Asso et *Thymus algeriensis* Boss. & Reut. et la possibilité de leur utilisation comme des bio-conservateurs dans le lait et le babeurre (L'ben).

Chapitre I

Partie bibliographique

I.1. Les huiles essentielles

I.1.1. Généralités

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolées par hydrodistillation, distillation à la vapeur ou par expression mécanique (Kalemba et Kunicka, 2003). Elles sont d'origine végétale composées de molécules aromatiques odorantes, plus ou moins colorées, volatiles, de nature hydrophobe, solubles dans les alcools, les solvants organiques et dans les huiles végétales. Ces molécules sont synthétisées naturellement par des cellules sécrétrices, ensuite elles sont transportées lors de la croissance de la plante dans d'autres parties. On les trouve dans le bois, les fruits, les fleurs, les écorces, les graines et les racines. (Ghanmi *et al.*, 2011).

I.1.2. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges d'un grand nombre de composés chimiques qui peuvent contenir jusqu'à environ 100 composants (Thormar, 2011). Elles sont complexes et très variables appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Bruneton, 2009).

I.1.2.1. Les terpènes

Les terpènes, également connu sous le nom terpénoïdes lorsqu'ils contiennent de l'oxygène, sont le plus grand groupe de composés naturels, avec plus de 30 000 structures connues (Thormar, 2011). Ils sont des hydrocarbures de formule $(C_5H_8)_n$ formés de deux ou plusieurs unités d'isoprène (2-Méthyl-1,3-butadiène) (Figure 1). Cette dernière est composée de cinq atomes de carbone. Le carbone 1 de l'isoprène s'appelle la tête ; Le carbone 4 s'appelle la queue. Le terpène est formé par la liaison de la queue d'une unité isoprénique avec la tête de l'autre. C'est la règle de l'isoprène (Brown *et al.*, 2013).

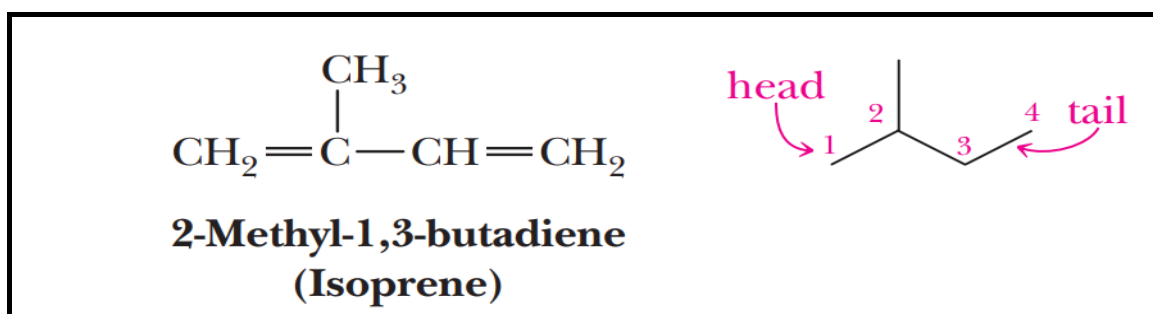


Figure 1. Structure de l'isoprène (C_5H_8) (Brown *et al.*, 2013).

Les terpènes peuvent être classés selon le nombre de carbone qu'ils contiennent (Figure 2) en hémiterpène (C_5), monoterpène (C_{10}), sesquiterpène (C_{15}), diterpène (C_{20}), triterpène (C_{30}) et tetraterpène (C_{40}) (Cazes, 2005). Les huiles essentielles ne contiennent que les terpènes les plus volatils, dont le poids moléculaire n'est pas trop élevé, ce sont les monoterpènes et les sesquiterpènes (Bruneton, 2009).

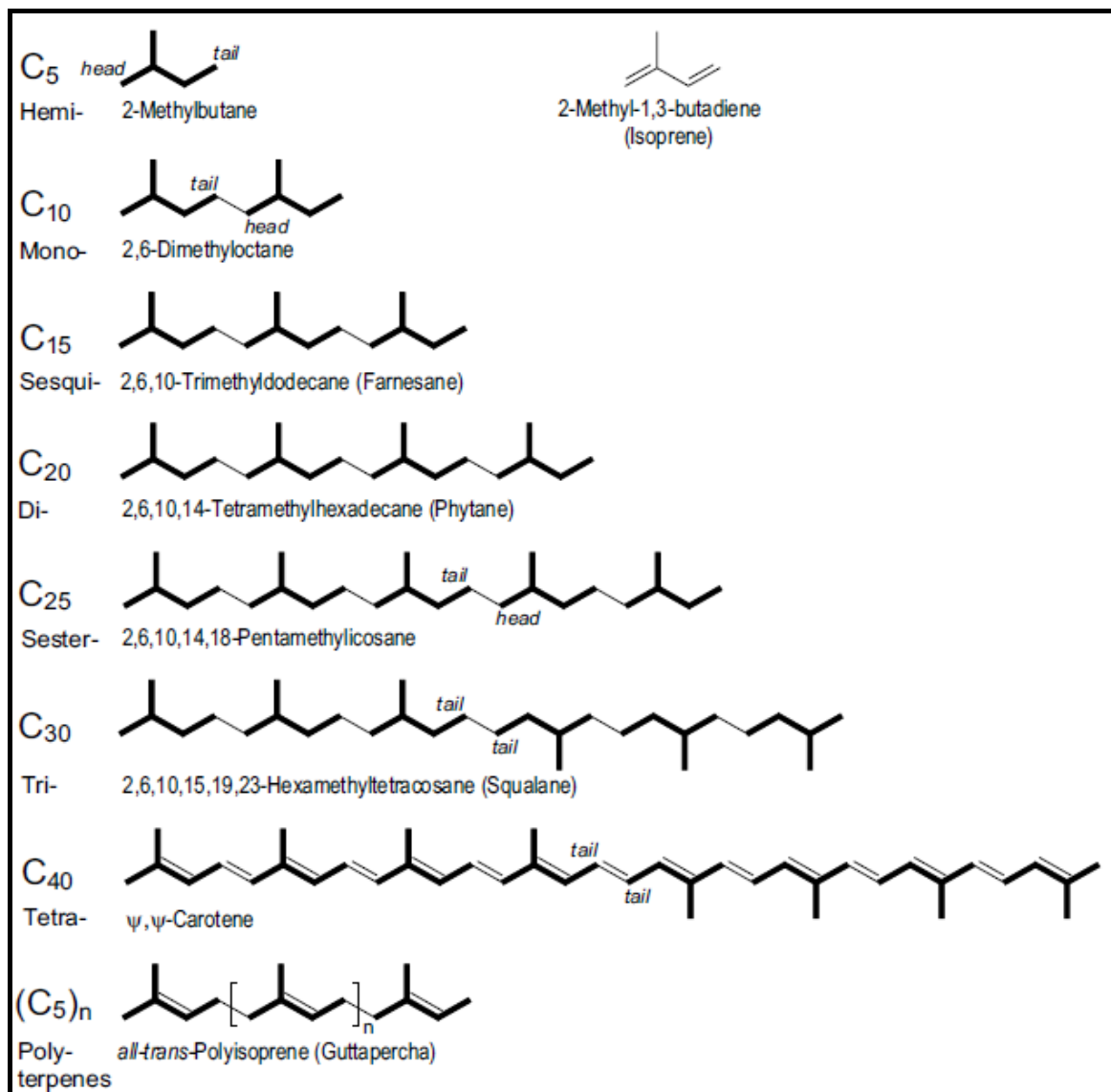


Figure 2. Classification des terpènes selon le nombre de carbone (Breitmaier, 2006).

I.1.2.1.1. Les monoterpènes

Ces terpènes sont composés de deux unités d'isoprènes et ont la formule moléculaire $C_{10}H_{16}$. Ils peuvent être divisés en 3 groupes : monoterpènes acycliques, monocycliques ou bicycliques (Figure 3). Chaque groupe de ces monoterpènes peuvent avoir des groupes fonctionnels et être des alcools (linalol, menthol), des aldéhydes (phellandral), des cétones

(carvène, verbénone et thuyone), ou des phénols (carvacrol, thymol) (Waksmundzka-Hajnos *et al.*, 2008). Les monoterpènes carbures sont les molécules les plus petites et les plus légères dans les huiles essentielles. Le limonène est le monoterpène carbure présent en grande quantité dans l'essence des agrumes comme le citron et l'huile essentielle des conifères tels que le pin (Martin, 2007).

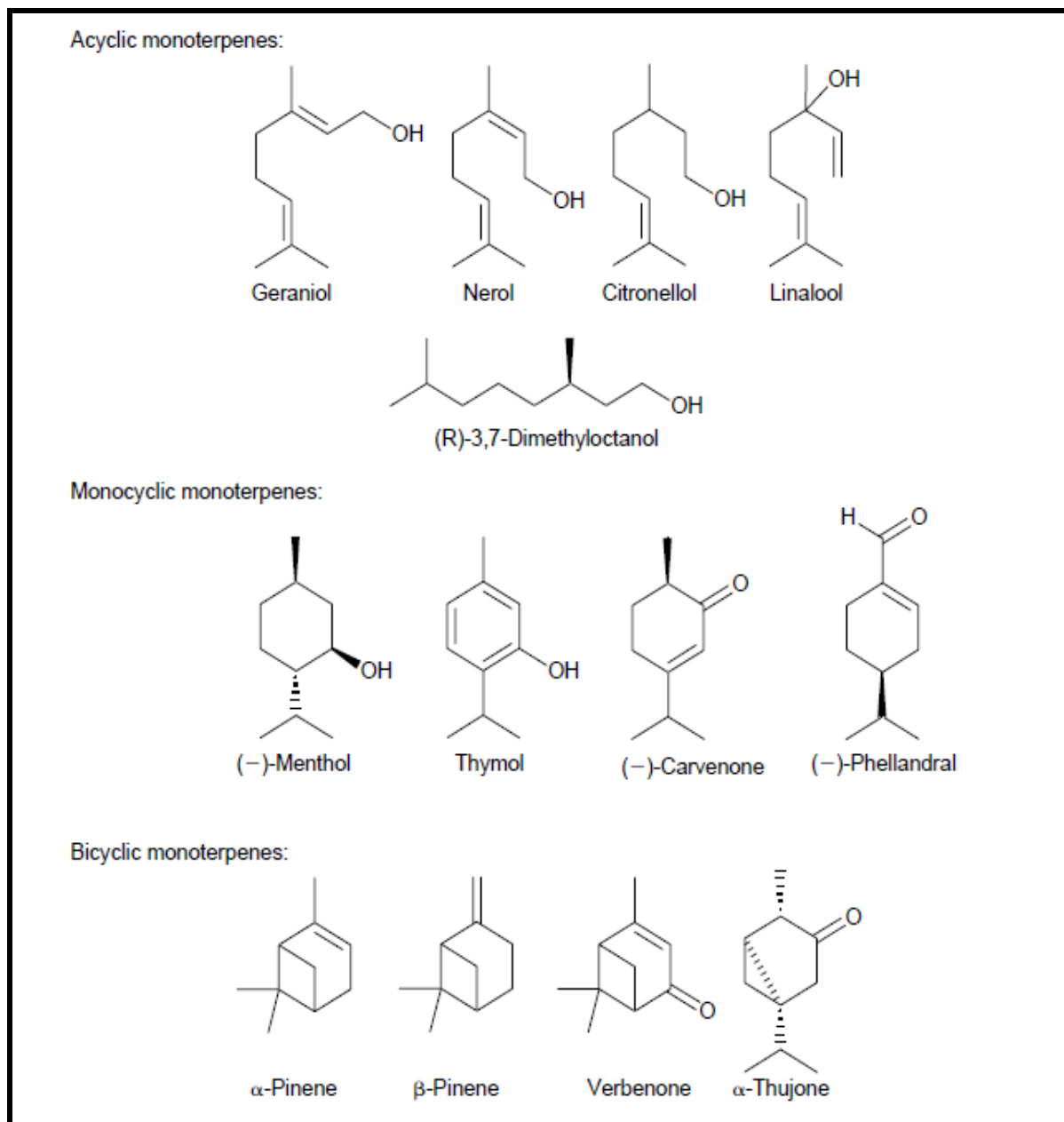


Figure 3. Classe des monoterpènes (Waksmundzka-Hajnos *et al.*, 2008).

I.1.2.1.2. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont les deuxièmes les plus courants après les monoterpènes. Ils sont formés par la combinaison de trois unités isopréniques et sont de formule $C_{15}H_{24}$. Les

Sesquiterpènes sont les plus diversifiés sur le plan structural, avec plus de 120 formes. Ils peuvent être acycliques, monocycliques, bicycliques ou tricycliques (Thormar, 2011) (Figure 4). Comme les monoterpènes, les sesquiterpènes peuvent être des hydrocarbures (β -bisabolène, β -caryophyllène), des alcools (farnesol, carotol, patchoulool), des cétones (nootkatone) ou des aldéhydes (anisaldéhyde, valerenal) (Salvador et Chisver, 2007).

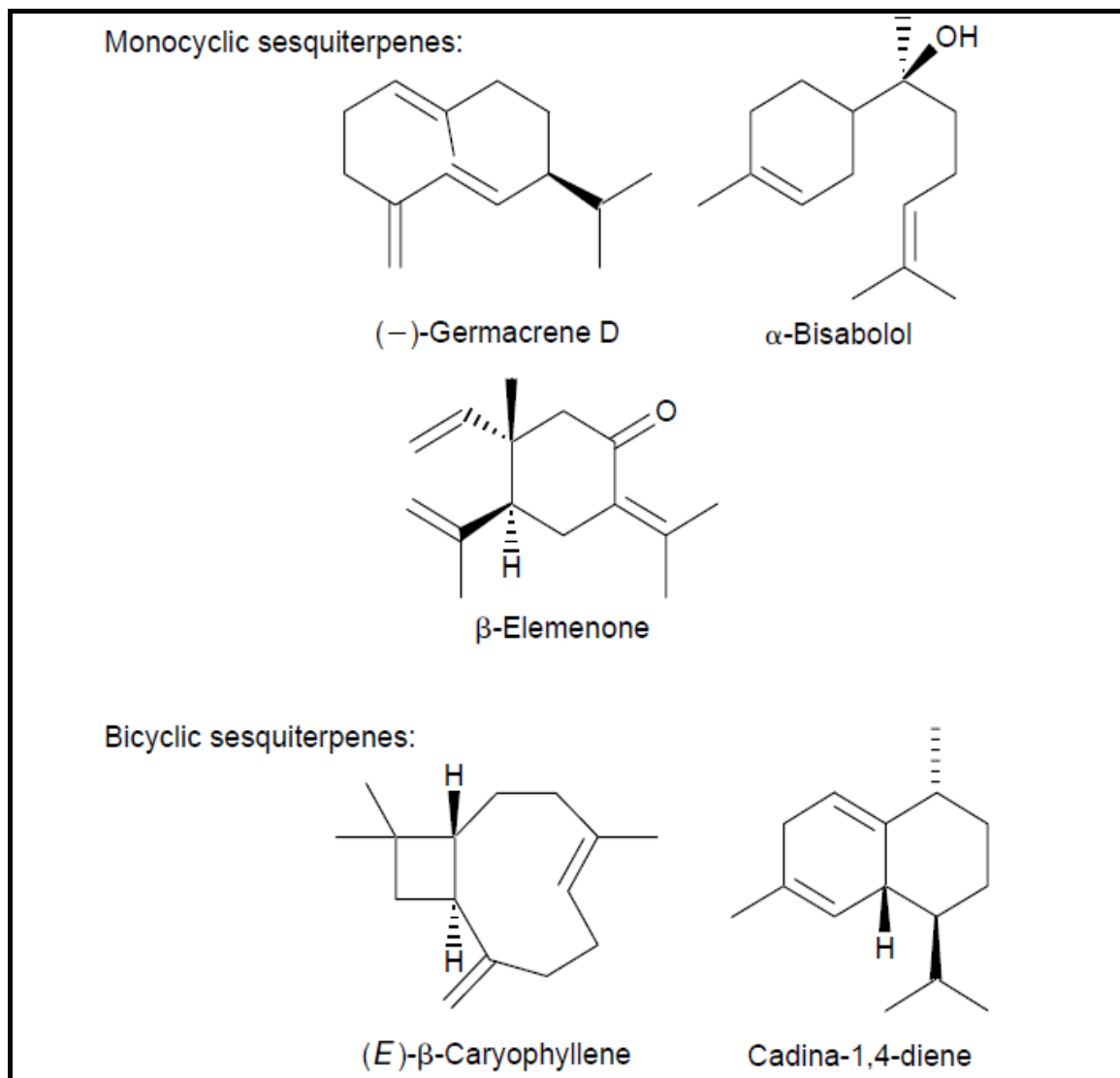


Figure 4. Exemple de sesquiterpènes (Waksmundzka-Hajnos *et al.*, 2008).

I.1.2.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont moins fréquents dans les huiles essentielles que ceux terpéniques. Il s'agit d'aldéhyde (cinnamaldehyde), d'alcool (alcool cinnamique), du phénol (chavicol, eugénol), de dérivé méthyloxy (anéthole, élémicine, estragole, méthyleugénols) et de composés de méthylène dioxy (apiole, myristicine, safrole) (Bakkali *et al.*, 2008).

I.1.2.3. Les composés d'origine diverses

Compte tenu le mode d'extraction des composés volatiles, par exemple lors de la distillation, certains composés aliphatique (carbure, aldéhydes, cétones, esters, alcools, acides) sont entraînés (Milpied-Homsi, 2009).

I.1.4. Les facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles

De nombreux facteurs exerçant une influence sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles. Généralement, ces facteurs sont classés en deux groupes endogènes et exogènes. Ces deux groupes ont des effets extrêmement variables sur la quantité et la qualité de l'huile essentielle (Lichtfouse, 2009).

I.1.4.1. Facteur endogène

Ce facteur comprend toutes les caractéristiques naturelles de la plante, tel que sa constitution génétique, mais aussi d'autres facteurs non génétiques tels que son âge, son stade de développement (Lichtfouse, 2009), ou son organe végétal utilisé (feuille, racine fleur ou graine) (Dris et Jain, 2004). Les facteurs génétiques influencent fortement le rendement et la composition des huiles essentielles dans les plantes, l'effet génétique est assez fort pour créer des huiles essentielles qui diffèrent largement dans leur composition, même au sein de la même espèce, on parle du chémotype (Havkin-Frenkel et Dudai, 2016).

I.1.4.2. Facteur exogène

Il comprend tous les facteurs externes que les plantes peuvent avoir pendant leurs cycles de croissance (Lichtfouse, 2009).

- Facteurs environnementaux, tel que la température, l'ensoleillement, la qualité de la lumière, l'humidité, la vitesse du vent, la pluviométrie, l'irradiance.

- Facteurs édaphiques du sol (porosité, rétention d'eau, sol argileux, sablonneux, teneur en azote, terrains calcaires, etc...). L'origine géographique : hauteur au-dessus du niveau moyen de la mer, le continent, la latitude.

- Facteurs d'agricultures, tel que le temps de la récolte, les engrais, l'irrigation et les maladies ; l'infection par des virus et l'attaque des ravageurs peuvent également modifier la composition et le rendement de l'huile essentielle (Dris et Jain, 2004 ; Figueiredo *et al.*, 2008 ; Preedy, 2009 ; Başer et Buchbauer, 2016).

Plusieurs recherches ont démontré la variation de la composition chimique des huiles essentielles au cours du jour. Vasconcelos *et al.* (1999) et Kpadonou *et al.* (2012) ont démontré la variation de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* en fonction de l'heure de la récolte. Une autre étude portée sur *Pycnocycla spinosa* a montré également la variation de la composition chimique au cours de la journée (Asghari *et al.*, 2014).

I.1.4.3. Facteur technologique

La composition de l'huile essentielle peut être influencée après la récolte, il s'agit des conditions de transport, de séchage et de stockage de la matière végétale (Preedy, 2009). Le procédé d'obtention de l'huile essentielle peut également modifier sa composition chimique. (Flamini, 2003).

I.1.5. Mode d'action des huiles essentielles sur les microorganismes

Le mécanisme d'action des huiles essentielles vis-à-vis des microorganismes peut être étudié, une compréhension plus profonde a été acquise sur l'action précise des huiles essentielles sur les microorganismes (Thormar, 2011). Les différentes actions des huiles essentielles sur les bactéries peuvent résulter non seulement de la variabilité de leur composition chimique, mais aussi des variations de la structure de la paroi cellulaire, de la composition lipidique et protéique de la membrane cytoplasmique et des processus physiologiques spécifiques des différentes espèces bactériennes (Walters et Roberts, 2007), ce qui explique que l'activité antibactérienne ne résultent pas d'un mécanisme spécifique, mais implique des différentes cibles cellulaires (Burt, 2004).

Des études ont montré que les différents mécanismes antibactériens peuvent créer des dommages de la paroi cellulaire, rupture de la membrane cytoplasmique, lésions des protéines membranaires, fuite des composants cellulaires, coagulation du cytoplasme et épuisement de la force motrice produisant la mort des microorganismes par la modification de la structure de la cellule bactérienne (Ranjan *et al.*, 2017). Une blessure à une structure cellulaire peut entraîner de nombreux effets sur les fonctions cellulaires (Rai et Kon, 2013) (Figure 5).

Les huiles essentielles peuvent avoir d'autre influence sur les microorganismes comme la perturbation de la production d'ATP, l'homéostasie du pH, affectation du transcriptome cellulaire, le protéome, le système de quorum sensing. (Rai et Kon, 2013), la perturbation des systèmes enzymatiques, la perte du matériel génétique des bactéries et la formation des acides

gras hydroperoxydases causée par oxygénation des acides gras insaturés (Tajkarimi et Ibrahim, 2012).

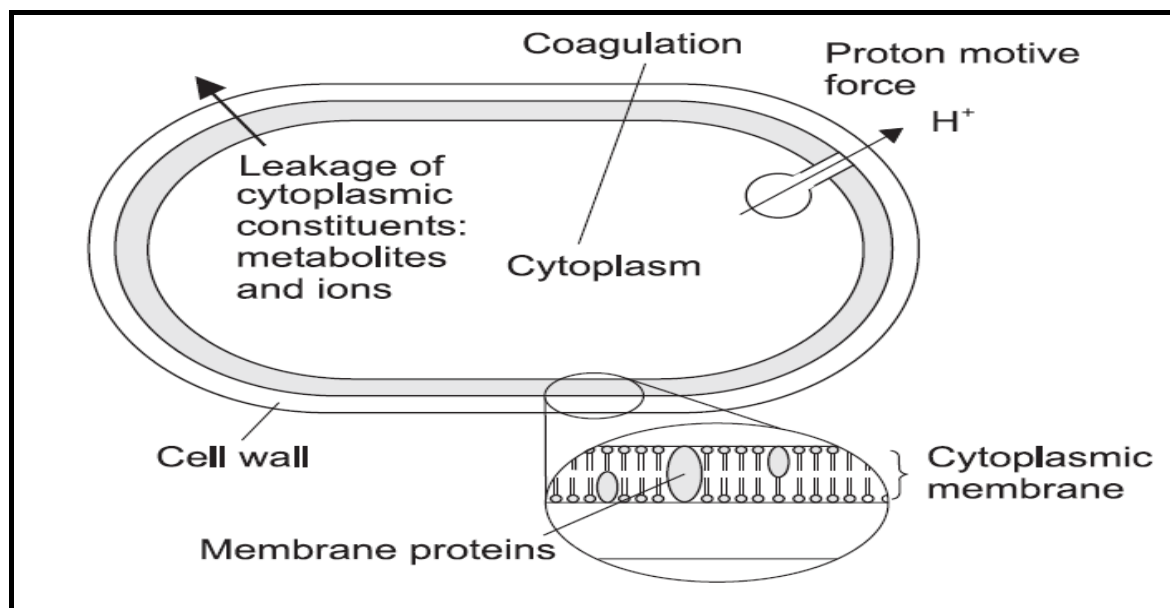


Figure 5. Mode d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne (Burt, 2004).

L'action antimicrobienne des huiles essentielles dépend de leur caractère hydrophile ou lipophile (Kalemba et Kunicka, 2003), L'hydrophobicité des huiles essentielles leur permet de traverser la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique, perturbant ainsi la structure de leurs différentes couches de polysaccharides, acides gras et phospholipides, en les rendant perméables (Hrckova et Velebny, 2013). L'action des huiles essentielles diffère selon le type de microorganisme, les bactéries à Gram positif sont plus sensibles que les bactéries à Gram négatif (Nychas et Tassou, 2014). Les bactéries à Gram positif et les champignons peuvent avoir des mécanismes d'action similaire. Les composants des huiles essentielles détruisant la paroi, la membrane cellulaire bactérienne et fongique, entraînant une fuite et une coagulation du cytoplasme (Kalemba et Kunicka, 2003).

Les bactéries à Gram négatif présentent une imperméabilité à une grande variété des huiles essentielles à cause de la surface hydrophile de leur membrane externe, riche en molécules lipopolysaccharides qui forme une barrière contre les macromolécules et les molécules hydrophobes (Hyldgaard *et al.*, 2012). Cependant certains composants des huiles essentielles de nature phénolique, comme le carvacrol et le thymol, peuvent désintégrer la membrane externe des bactéries à Gram négatif, libérant des lipopolysaccharides (LPS) et augmentant la perméabilité de la membrane cytoplasmique de l'ATP (Bevilacqua *et al.*, 2010).

L'analyse ultrastructurale par microscopie à force atomique, microscopie électronique à balayage et microscopie électronique par transmission a montré des changements sévères à modérés dans la surface de plusieurs agents pathogènes bactériens (Rai et Kon, 2013).

I.1.6. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

Le choix de la technique d'extraction des huiles essentielles dépend principalement de la matière première : son état originel et ses caractéristiques, sa nature proprement dite. Ce choix conditionne les caractéristiques de l'huile essentielle, en particulier : viscosité, couleur, solubilité, volatilité, enrichissement ou appauvrissement en certains constituants (AFSSAPS, 2008).

I.1.6.1. Extraction par distillation

I.1.6.1.1. Extraction par hydrodistillation

Cette technique consiste à utiliser un distillateur ou alambic ; la matière végétale est immergée directement dans l'eau (contact directe entre la matière végétale l'eau) puis porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par différence de densité, L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat (Bruneton, 1999).

I.1.6.1.2. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau

À la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter, elle consiste à faire passer la vapeur d'eau à travers la matière végétale placée dans la partie supérieure de l'alambic. La partie inférieure de celui-ci est remplie d'eau. Durant le passage de la vapeur d'eau à travers la matière végétale, l'huile essentielle est entraînée par la vapeur. Le mélange de vapeurs est condensé sur un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par décantation (AFSSAPS, 2008).

I.1.6.1.3. L'hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une forme de distillation à la vapeur. La différence tient à la façon dont la vapeur entre dans l'alambic. Elle consiste à injecter la vapeur d'eau à travers la matière végétale, du haut vers le bas. Le mélange de vapeur se condense directement au-dessous du support de la plante à travers d'un plateau perforé. Le mode de séparation des huiles essentielles est le même que celui présent dans d'autres méthodes de distillation (Li *et al.*, 2014). Cette méthode est utilisée pour l'extraction des huiles essentielles de la partie ligneuse et dure de la plante, telle que les graines. Ce procédé est beaucoup plus rapide, il permet de

réduire la consommation de la vapeur, du temps de distillation, ce qui permet d'obtenir un meilleur rendement et une huile essentielle de meilleure qualité (Gould, 2003 ; Li *et al.*, 2014).

I.1.6.2. Enfleurage

C'est un procédé coûteux et long utilisé pour l'extraction des huiles essentielles à partir de fleurs très délicates comme le jasmin ou la tubéreuse et qui produisent de faible quantité d'huile essentielle. Elle consiste à mettre des pétales de fleur sur des châssis enduits de graisse animale ou d'huile végétale inodore qui absorbent les huiles essentielles (Wilson, 2002). Les fleurs sont remplacées par d'autres neuves après que la matière grasseuse est absorbée l'huile essentielle (Toutes les 24 heures pour le jasmin et toutes les 72 heures pour la tubéreuse) (Worwood, 2001). Cette procédure se poursuit jusqu'à ce que la matière grasseuse devienne saturée avec l'huile essentielle. Ce stade génère la pommade d'enfleurage, cette dernière est lavée avec de l'alcool pour séparer l'huile essentielle de la matière grasseuse. L'huile essentielle absolue est récupérée par évaporation de l'alcool (Pittman, 2004).

I.1.6.3. Extraction par expression à froid

C'est un procédé mécanique très simple qui consiste à briser les molécules contenant l'essence « les poches oléifères » des zestes d'agrumes frais comme le citron, la bergamote, le pamplemousse, la mandarine et le yuzu (Buronzo, 2008 ; Worwood, 2001). Le principe de l'extraction repose sur la rupture des poches d'essence par des moyens mécaniques (pression, incision ou abrasion). L'essence est alors séparée de la phase aqueuse par décantation ou centrifugation (Jeantet *et al.*, 2016). Le produit obtenu se nomme « essence » et non huile essentielle, car le mode d'obtention est différent (Ricard, 2013).

I.1.6.4. Extraction par les solvants organiques

Cette méthode est utilisée pour l'extraction d'huiles essentielles à partir des plantes délicates, thermiquement instables et qui possèdent une faible quantité d'huiles essentielles. Dans ce procédé, le solvant pénètre à l'intérieur des cellules de la plante pour dissoudre les huiles essentielles ainsi que les cires et les pigments (Board, 2011). Un solvant volatil tel que l'hexane est utilisé pour extraire les composés aromatiques de la plante. Le produit obtenu est appelé « concrète », celui-ci est traité par la suite avec de l'alcool. Ce dernier est évaporé pour obtenir une « absolue » (Wilson, 2002).

I.1.6.5. Extraction par le CO₂

C'est une méthode coûteuse qui implique l'utilisation du dioxyde de carbone supercritique pour l'extraction des huiles essentielles (Capellini, 2012). A l'état supercritique, le CO₂ n'est ni liquide, ni gazeux. La température et la pression sont supérieures à ses valeurs critiques ($P=73,8$ bars et $T= 31^{\circ}\text{C}$). Le CO₂ est le fluide supercritique le plus utilisé ; Il n'est ni toxique ni inflammable, disponible, peu coûteux, et présente des paramètres critiques pratiques qui facilite la manipulation (Damian et Damian, 1995 ; Berton, 2007 ; Jones, 2011). L'huile essentielle récupérée ne contient aucune trace de solvant résiduel qui est facilement éliminé par évaporation sous forme gazeuse (Capellini, 2012).

I.1.6.6. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

C'est l'un des procédés les plus récents utilisé pour l'extraction des huiles essentielles qui se compose principalement de quatre parties (Figure 6) : un réacteur où la matière végétale est placée, un four à micro-ondes, un système de réfrigération, et un essencier où l'huile essentielle est récupérée.

Ce procédé consiste à une distillation sèche où la matière végétale fraîche est placée dans un réacteur à micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant organique. Le rayonnement micro-onde permet de chauffer la matière végétale où les glandes contenant les huiles essentielles sont brisées. Celle-ci est entraînée avec la vapeur d'eau contenue dans le végétal où elle est ensuite récupérée à l'aide des procédés classiques de condensation refroidissement et décantation (Lucchesi, 2005 ; Chemat et Cravotto, 2013).

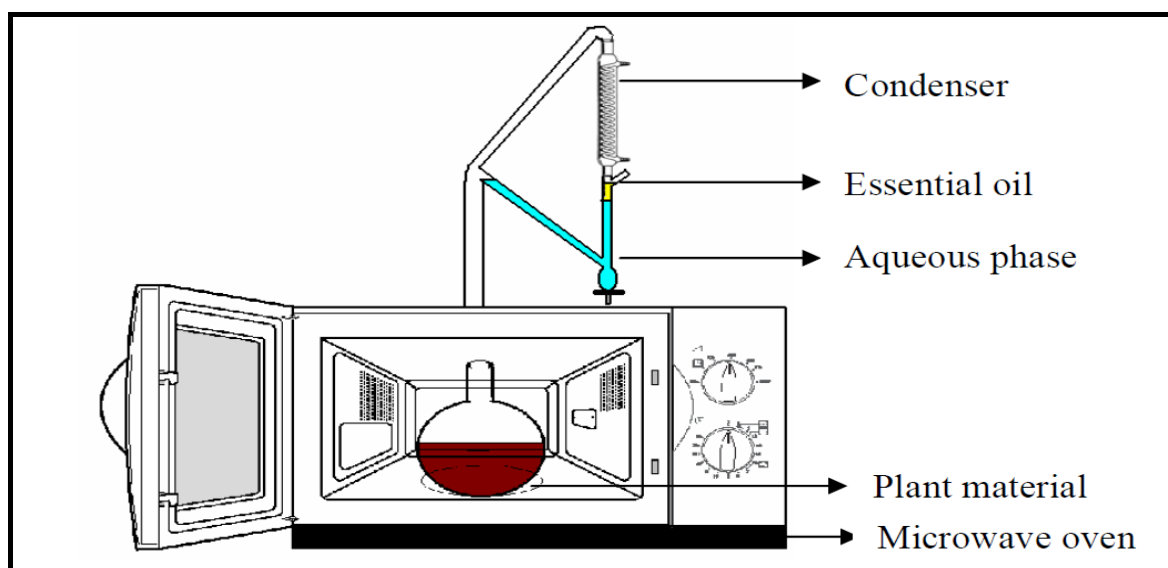


Figure 6. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Phutdhawong *et al.*, 2007).

I.2. Médecine traditionnelle et ethnobotanique

I.2.1. Médecine traditionnelle

La médecine traditionnelle est la somme des connaissances, des compétences, des pratiques basées sur les théories, les croyances et les expériences autochtones de différentes cultures, utilisées pour maintenir la santé, ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, améliorer ou traiter les maladies physiques et mentales (OMS, 2013).

I.2.2. Phytothérapie

La phytothérapie est une médecine qui utilise les plantes médicinales pour guérir des maladies. Une plante médicinale est définie comme une plante modulant de manière bénéfique dans les soins de santé ; elle est utilisée pour ces propriétés curatives pour traiter et prévenir des maux et des maladies spécifiques (Srivastava *et al.*, 1996). Elle comporte dans l'un ou plusieurs de ses organes des substances utilisées à des fins thérapeutiques ou comme précurseurs de la synthèse de médicaments (Odugbemi, 2008). D'après Kathe (2006) l'utilisation ancienne des plantes médicinales par l'homme remonte à environ 7 000 ans ; il a toujours cherché à utiliser des plantes pour se nourrir, pour soulager ses douleurs, guérir ses maux et ses plaies.

La connaissance de l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales par les populations est utile, non seulement pour la préservation des connaissances traditionnelles et de la biodiversité, mais également pour la découverte de nouvelles molécules bioactives pour le développement de nouveaux médicaments (Ahmad *et al.*, 2014).

I. 2.3. Ethnobotanique

L'ethnobotanique est une discipline scientifique qui étudie la relation entre l'homme et les plantes dans toute sa complexité. Elle se concentre non seulement sur les plantes médicinales, mais aussi sur d'autres produits naturels dérivés de la nature, tels que : les aliments, les plantes utilisées dans des rituels, les colorants, les plantes à fibres, les poisons, les engrais, les matériaux de construction, les articles ménagers, les bateaux (Heinrich *et al.*, 2004). La nature multidisciplinaire de l'ethnobotanique autorise un large éventail d'approches et d'applications et laisse la possibilité à de nombreux scientifiques d'étudier l'utilisation des plantes de différentes manières (Alexiades, 1996). L'ethnobotanique englobe de nombreux domaines, dont la botanique, la biochimie, la pharmacognosie, la toxicologie, la médecine, la nutrition, l'agriculture, l'écologie et la sociologie (Ghorbani *et al.*, 2006).

I.3. Le lait

I.3.1. Définition

Le lait est un fluide biologique blanc, opaque secrété par les glandes mammaires des femelles des mammifères. C'est un aliment complexe très riche en graisses émulsionnées, en protides, en lactose, en vitamines, et en sels minéraux surtout en calcium (Mahaut *et al.*, 2000). Le Codex alimentarius en 1999, définit le lait comme étant la sécrétion mammaire de femelles mammifères obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou après un traitement. Selon le congrès international de la répression des fraudes à Genève en 1908, le lait désigne le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum (Alais, 1975).

I.3.2. Composition chimique du lait

La composition chimique du lait présente des catégories de composants communes tel que : l'eau, les protéines, le lactose, la matière grasse et minérale. Cependant, les proportions de ces composants varient largement d'une espèce à une autre, mais aussi à l'intérieur des mêmes espèces (Tableau 1) ; Cette variabilité peut dépendre de la nutrition, du stade de lactation, de l'âge et de l'époque de l'année (FAO, 1995).

Tableau 1. Composition chimique moyenne du lait de différentes espèces (g/L) (FAO, 1995).

Constituant	Vache	Bufflonne	Chamelle	Jument	Chèvre	Brebis
Extrait sec total	128	166	136	109	134	183
Protéines	34	41	35	25	33	57
Caséine	26	35	28	14	24	46
Lactose	48	49	50	60	48	46
Matières salines	9	8	8	4	7,7	9
Matières grasses	37	68	45	20	41	71

I.3.2.1. L'eau

L'eau est le constituant le plus important du lait. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre en formant une émulsion du type huile dans l'eau (H/E). Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides (Lapointe-Vignola, 2002).

I.3.2.2. Glucide de lait

Le glucide principal du lait est le lactose, la teneur du lait en lactose de vache est comprise entre 4,4% et 5,2%, soit en moyenne 4,8% de lactose anhydre. Cela correspond habituellement de 50% à 52% de la matière sèche totale du lait écrémé. Parmi les autres glucides libres présents dans le lait, mais à faible concentration, figurent le glucose, le galactose, les sucres aminés, les phosphates de sucre, les oligosaccharides neutres et acides, ainsi que les sucres nucléotidiques (Nollet et Toldrá, 2009).

I.3.2.3. La matière grasse

La matière grasse du lait est sécrétée sous la forme d'une émulsion globulaire microscopique de graisse liquide appelé globule gras. Celui-ci est excrété de la cellule sécrétaire de la glande mammaire à travers la membrane cellulaire apicale. La membrane des globules gras du lait sert de barrière séparant les compartiments aqueux de composition différente en soluté, mais sert également de base structurelle à laquelle certains enzymes et systèmes de transport sont liés (Guardiola *et al.*, 2002). Ainsi, divers composés lipidiques ou liposolubles mineurs tel que les phospholipides, les stérols, les caroténoïdes, et les vitamines A, D, E et K sont présent dans le lait (Nollet et Toldrá, 2009).

Les acides gras nécessaires à la synthèse du triglycéride du lait proviennent soit des lipides plasmatiques sanguins provenant de la digestion et de l'absorption de graisses alimentaires, soit de la mobilisation du tissu adipeux. Plus de 80% des lipides sériques sanguins proviennent de sources alimentaires (Chandan *et al.*, 2016).

Le tableau 2 représente les acides gras de la matière grasse du lait.

Tableau 2. Profil d'acide gras de la matière grasse du lait (Chandan *et al.*, 2016).

Acide gras	Nom commun	Poids (%)
C4 :0	Acide butyrique	3,8
C6 :0	Acide caproïque	2,4
C8 :0	Acide caprylique	1,4
C10 :0	Acide caprique	3,5
C12 :0	Acide laurique	4,6
C14 :0	Acide myristique	12,8
C14 :1	Acide myristoleique	1,6
C15 :0	—	1,1
C16 :0 (ramifié)	—	0,30
C16 :0	Acide palmitique	43,7
C16:1	Acide palmitoleique	2,6
C17:0	—	0,34
C18:0 (ramifié)	—	0,35
C18 :0	Acide stéarique	11,3
C18 :1	Acide oléique	27,42
C18 :2	Acide linoléique	1,5
C18 :3	Acide linoléique	0,59

I.3.2.4. Matière azotée et protéine

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95 et 5% de l'azote minéral du lait (FAO, 1995). Les protéines majeures spécifiques du lait sont les caséines, elles représentent de 80 à 90% des protéines totales selon les espèces. Les principales caséines α , β , et κ sont des phosphoprotéines riches en proline (8 à 17% des acides aminés) mais pauvre en cystéines ;

elles sont insolubles à pH 4,6. Elles sont présentées sous forme de micelles composées d'une association des caséines $\alpha + \beta$ chevillée par une caséine κ . La partie minérale de la micelle comporte le phosphate et le calcium. La présence de phosphate de calcium lié à la caséine est l'une des forces responsables de la stabilité de la structure des micelles de la caséine. Les protéines mineures sont solubles dans l'eau et elles se trouvent dans le lactosérum après coagulation et écrémage du lait. Elles comprennent des protéines de liaison de métaux comme le fer et le cuivre (lactoferrine et transferrine), des glycoprotéines membranaires. Les protéines du lactosérum les plus abondantes sont les immunoglobulines, l' α -lactalbumine, la β -lactoglobuline, et l'albumine sérique. La concentration de ces protéines est très variable selon les espèces (Thibault et Levasseur, 2001).

I.3.2.5. Les minéraux

La teneur en minéraux constitue une petite partie du lait (8–9 g/L), comprenant principalement le calcium, le potassium, le magnésium, le sodium, le chlore, le sulfate et le citrate de phosphate. Certains composants, tels que le chlorure, le sodium et le potassium, sont totalement solubles dans le lait, tandis que d'autres tels que le calcium, le magnésium, le sulfate, le phosphore inorganique et le citrate sont en équilibre entre les phases liquides et colloïdales. La teneur en minéraux du lait varie considérablement en raison de plusieurs facteurs tels que la période de lactation, la race de l'animal, la saison de l'année, le type d'aliment pour animaux (Nollet et Toldrá, 2009).

I.3.2.6. Les vitamines

Le lait contient des vitamines liposolubles et hydrosolubles. Le lait entier est une bonne source de vitamine A, la vitamine D est importante pour la santé des os, la vitamine E est un antioxydant et la vitamine K est présente dans le lait mais son rôle nutritionnel diététique est mineur. Le lait est une source importante de vitamines B alimentaires (Tableau 3). Ils sont stables aux différentes conditions de chauffage et de traitement auxquelles le lait est normalement soumis. La riboflavine est vulnérable à la lumière, générant des défauts d'arôme du soleil dans le lait. La teneur en lait de l'acide ascorbique (vitamine C) est très basse et non significative. La majeure partie de la teneur en vitamine C du lait est détruite pendant la pasteurisation (Chandan *et al.*, 2016).

Tableau 3. Principaux vitamines présentes dans le lait cru de vache (Chandan *et al.*, 2016).

Vitamines	Teneur/ 100 g
Thiamine (B1)	45 µg
Riboflavine (B2)	175 µg
Niacine	90 µg
Pyridoxine (B6)	50 µg
Pantothenic acid	350 µg
Biotine	3,5 µg
Acide folique	5,5 µg
Vitamine B12	0,45 µg
Vitamine C	2 mg
Vitamine A	40 µg (RE)
Vitamine D	4 (IU)
Vitamine E	100 µg
Vitamine K	5 µg

I.3.2.7. Les enzymes

De nombreuses enzymes du lait indigènes sont importantes sur le plan technologique selon certains points de vue (Fox, 2003) :

1. Détérioration (lipase « potentiellement l'enzyme la plus importante dans le lait », protéinase, phosphatase acide et xanthine oxydase), ou conservation (lactoperoxydase, sulfhydryle oxydase, superoxyde dismutase) de la qualité du lait.
2. Activité antimicrobienne, comme le lysozyme et la lactopéroxydase (qui est exploitée en tant que composant du système lactopéroxydase–H₂O₂–thiocyanate pour la pasteurisation à froid du lait).
3. comme source commerciale d'enzymes ; ceux-ci incluent la ribonucléase et la lactoperoxydase.

I.3.3. Propriétés physico-chimiques du lait

I.3.3.1. pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Le pH du lait frais à 20°C varie entre 6,6 et 6,8 plutôt proche de 6,6 immédiatement après la traite. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une diminution du pH (Croguennec *et al.*, 2008).

I.3.3.2. Acidité du lait

L'acidité titrable mesure la quantité d'acide lactique présente dans un échantillon de lait. On l'exprime en degré Dornic (°D). Cette acidité peut varier entre 15 et 17°D (Croguennec *et al.*, 2008). L'acidité naturelle du lait est attribuable à la présence de caséine, de substances minérales, de traces d'acides organiques et de réactions secondaires dues aux phosphates. L'acidité développée du lait est causée par l'acide lactique et d'autres acides provenant de la dégradation microbienne du lactose dans les laits altérés. Le dosage de l'acidité par titrage est une des mesures analytiques les plus courantes en technologie laitière (Lapointe-Vignola, 2002).

I.3.3.3. Conductivité électrique

En raison de leur teneur en ions, le lait conduit un courant électrique. La conductivité spécifique du lait est faible (4 à 5 S.m⁻¹ à 25°C). Il est contrôlé principalement par les niveaux d'ions sodium et chlorure ; une augmentation des ions entraîne une augmentation de la conductivité. Les maladies du pis peuvent être détectées par une augmentation de la conductivité du lait cru. La conductivité spécifique diminue avec l'augmentation de la teneur en matière grasse et convient donc à la détermination de la teneur en matière grasse dans des processus automatisés (Spreer, 1998).

I.3.3.4. Densité

La densité du lait à 20 °C varie de 1,027 à 1,033 avec une moyenne de 1,030. Par conséquent, le poids d'un litre de lait se situerait entre 1,027 et 1,033 kg. La température affecte la densité car le lait se dilate lorsqu'il est chauffé et devient donc moins dense à mesure que la température augmente (Chandan *et al.*, 2016).

I.3.3.5. Point de congélation

Le point de congélation moyen du lait cru est à $-0,526^{\circ}\text{C}$; du lait pasteurisé compris entre $-0,517$ et $-0,521^{\circ}\text{C}$. Le point de congélation est influencé par le lactose dissous et les ions dissous de manière similaire du sel du lait et de quelques autres composés ayant une masse moléculaire relativement faible. Cette relation permet de détecter une altération avec de l'eau ou avec des additifs, par exemple les sels, les désinfectants ou les agents neutralisants. Des valeurs inférieures à $-0,500^{\circ}\text{C}$ indiquent un frelatage avec de l'eau. Des valeurs supérieures à $-0,62^{\circ}\text{C}$ indiquent un frelatage avec des sels (Spreer, 1998).

I.3.3.6. Point d'ébullition

Le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit $100,5^{\circ}\text{C}$. Cette propriété physique diminuant avec la pression, on applique ce principe dans les procédés de concentration du lait (Lapointe-Vignola, 2002).

I.3.4. Qualité organoleptique du lait

I.3.4.1. La saveur

Le lait de vache a une saveur caractéristique (odeur et goût). Il s'agit d'une propriété complexe associée à des traces de nombreuses substances, notamment le dioxyde de carbone, les cétones, les aldéhydes, les acides gras, les composés sulfhydriques. Les saveurs rances ou savonneuses du lait proviennent des acides gras libres dans le lait, qu'ils soient dérivés de lipases naturelles du lait ou de l'activité de micro-organismes (Lasztity, 2009).

I.3.4.2. La couleur

L'aspect blanc du lait cru résulte de sa structure physique. Les micelles des caséines et les globules gras dispersent la lumière incidente. Plusieurs facteurs alimentaires ont été identifiés comme étant responsables des caractéristiques du lait cru. Dans les systèmes de pâturage, une variation des caroténoïdes dans le lait au cours du temps peut dépendre à la fois de la quantité de caroténoïde ingérée et du rendement en lait. La teneur en caroténoïdes et la couleur du lait et des produits laitiers peuvent être contrôlés par la gestion de l'alimentation (Caivano et Buera, 2012).

I.3.5. Source de contamination du lait

Le lait d'un animal parfaitement sain trait aseptiquement, est normalement dépourvu de micro-organismes ; Les sources de contamination probables du lait sont dues à l'hygiène du trayon lors de la traite, l'intégrité ou l'infection de sa peau et de son canal. C'est dans les productions du lait cru que la contamination du lait prend toute son importance. L'étape de la traite est un passage pour les principaux germes pathogènes ; des staphylocoques dorés sont présents dans les lésions de la peau ou du canal du trayon qui peuvent contaminer directement le lait au moment de la traite ou induire des mammites cliniques et, surtout, subcliniques, qui seront-elles-mêmes sources importantes de contamination (FAO, 1995).

Des *Listeria*, coliformes ou salmonelles transmis au lait lors d'une traite insuffisamment hygiénique, le trayon est alors le relais entre l'environnement de la vache et le lait (Gourreau, 1995). Le matériel de récolte du lait (eau de traite, seaux à traire, machines à traire), le matériel de conservation et le transport du lait (bidons, cuves, tanks) sont aussi des sources de contamination du lait cru (FAO, 2008). L'animal peut aussi contaminer indirectement le lait par des particules d'excréments, d'expectorations, et d'autres rejets, ou par le voisinage avec des animaux malades de même espèce ou d'espèces différentes (chèvre, par exemple). L'homme malade ou porteur sain ou infecté peut être également une cause de contamination de l'animal ou de son environnement et du lait (FAO, 1995).

I.3.6. Microbiologie du lait

I.3.6.1. Flore originelle ou lactique

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 UFC/mL). La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles. Il s'agit essentiellement des germes mésophiles : Microcoques, Streptocoques lactiques, Lactobacilles (Lapointe-Vignola, 2002). Cependant, des germes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire peuvent être présents lorsque le lait est issu d'un animal malade (*Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium pyogenes*, *Staphylococcus aureus*) qui sont des agents des mammites et peut s'agir aussi de germes d'infection générale *Salmonella*, *Brucella*, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium*, *Bacillus anthracis* et quelques virus (Guiraud, 2003).

I.3.6.2. Flore de contamination

La flore contaminante est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération qui est capable de causer des défauts sensoriels ou de réduire la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène capable de provoquer des malaises chez les consommateurs de lait (Lapointe-Vignola, 2002).

I.3.6.2.1. Flore d'altération

Ce sont des germes provoquant l'autolyse des aliments, et donc leur altération. La flore d'altération cause des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture et réduit la vie des produits laitiers, parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. Ils ne sont en général pas dangereux pour le consommateur parce que leur présence en grande quantité est visible par l'état du produit (changement d'aspect, odeur désagréable, etc.) (Lapointe-Vignola, 2002 ; Tourette, 2002). Les principaux germes identifiés comme flore d'altération sont :

1. Les germes psychrotrophes : leur développement n'est pas stoppé par la réfrigération, les espèces majoritaires sont des *Pseudomonas* (70% des psychrotrophes du lait), et par ailleurs quelques bactéries aérobies à Gram négatif et certaines espèces de *Bacillus*, *Micrococcus*, *Aerococcus*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Aeromonas* et d'*Enterobacteriaceae* (FAO, 1995 ; Zagorec et Christieans, 2013).
2. Germes thermorésistants : ils résistent aux traitements thermiques comme la pasteurisation et se développent à des températures élevées. Certaines espèces des genres suivants sont en cause : *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium* (Tourette, 2002).
3. Coliformes : Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale. Ils peuvent aussi démontrer un mauvais nettoyage et une mauvaise désinfection d'appareils. Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme β -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 37°C. Les principaux genres inclus dans le groupe sont : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia*. Les altérations causées par ces bactéries sont très variées. Additionnées aux défauts du goût et d'odeur (protéase/lipases), les

défauts d'aspect sont également fréquents, en raison de la production de gaz (Zagorec et Christieans, 2013).

4. Moisissures : *Rhizopus*, *Geotricum*, *Aspergillus*, *Penicillium*.

5. Levures : *Candida*, *Rhodotulora*, *Hansenula*.

6. Germes protéolytiques : ils altèrent la saveur et l'odeur des produits. Certaines espèces de : *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Streptococcus faecalis* (Tourette, 2002).

I.3.6.2.2. Les microorganismes potentiellement pathogènes

La contamination du lait par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, et elle fait alors suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux, personnel). Les germes pathogènes associés aux produits laitiers auxquels on accorde une importance particulière, en raison de la gravité ou de la fréquence des risques qu'ils présentent sont : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp, *Echerichia coli* et les espèces du genre *Brucella*.

D'autres micro-organismes pathogènes peuvent être rencontrés dans le lait et les produits laitiers, parmi lesquels *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Coxiella burnetii*, *Streptococcus agalactiae*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, les moisissures productrices de toxines et les virus (Brisabois *et al.*, 1997).

I.4. Le babeurre

I.4.1. Définition

Le babeurre (L'ben) est une boisson rafraîchissante obtenu par fermentation spontanée du lait cru jusqu'à coagulation, suivie d'un léger mouillage puis par un barattage, addition d'eau et élimination du beurre (Tanataoui Elaraki *et al.*, 1983).

I.4.2. Préparation du babeurre

I.4.2.1. Préparation traditionnelle

Le lait cru est acidulé spontanément à la température ambiante jusqu'à la coagulation, ce qui peut prendre jusqu'à 24 à 72 h en fonction de la température pendant les saisons d'été et d'hiver, respectivement pour obtenir un produit s'appelle rayeb et peut être consommé tel quel. Toutefois, en brassant le fermentant, le produit est séparé en babeurre et en beurre brut.

Traditionnellement, le barattage a lieu dans un sac en peau appelé chekoua, qui est obtenu à partir d'une chèvre ou d'un agneau en une seule pièce. Le brassage est obtenu en suspendant la chekoua remplie de rayeb à un trépied en bois et en la secouant vigoureusement jusqu'à la fluidification du contenu et à la coalescence des globules gras (environ 45 à 60 min). La fin du barattage est perceptible par le son des grumeaux du beurre lors de l'agitation (Benkerroum et Tamime, 2004).

De nos jours, le brassage traditionnel est progressivement remplacé par l'utilisation des mélangeurs électriques. Ce sont des conteneurs métalliques, de différentes capacités, équipés d'un agitateur et d'un moteur sur le dessus. Le mélangeur électrique présente deux avantages principaux par rapport à la chekoua traditionnelle : il permet de gagner du temps et réduit l'effort physique nécessaire pour le barattage manuel d'une part et il peut être facilement nettoyé et assaini d'autre part. Un nettoyage minutieux de la chekoua est en effet très laborieux et prend beaucoup de temps (Abd-El-Malek, 1978).

I.4.2.2. Préparation industrielle

L'industrie laitière utilise des cultures industrielles sélectionnées afin de doter au babeurre des caractéristiques souhaitées résultant de l'activité métabolique et des propriétés technologiques des souches lors de leur croissance en lait. Cela conduit à une qualité standard des produits et à un niveau élevé de reproductibilité des processus (Chammas *et al.*, 2006). La préparation du babeurre se fait à l'aide du lait le plus souvent partiellement ou totalement écrémé. Dans les pays où la production laitière est faible, il est fréquemment préparé par l'utilisation du lait reconstitué (1 kg de poudre de lait écrémé pour 10 L d'eau).

Après pasteurisation, le lait est refroidi à 20-22°C etensemencé au moyen de 2,5 à 3% d'une culture de bactéries lactiques mésophiles. La fermentation se poursuit pendant 18 à 20 heures à 22°C environ jusqu'à coagulation et obtention d'une acidité de 0,65 à 0,70 pour cent d'acide lactique (de 65 à 70°Dornic).

Le caillé est alors plus ou moins finement divisé et brassé en même temps qu'il est refroidi vers 4-5°C. Il est ensuite mis en conditionnement de vente ou vendu en vrac. Au froid, ce produit légèrement acide et au goût agréable peut se conserver une semaine. Il peut être préparé avec des laits de diverses espèces (brebis, chèvre) (FAO, 1995).

I.4.3. Composition et caractéristique physico-chimique du babeurre

La composition chimique du babeurre varie d'une région à une autre, au cours de la période de lactation et des incohérences constatées dans les étapes de fabrication adoptées (Benkerroum et Tamime, 2004). Néanmoins, certains indicateurs donnent une idée sur la qualité globale du produit et le processus de sa fabrication. La fermentation du lactose augmente l'acidité titrable dans le « babeurre » à plus de 0,60% d'acide lactique, par conséquent le pH et le lactose baissent respectivement au-dessous de 4,7 et 3,7 g/100g.

L'extraction du beurre diminue le contenu en lipides à environ 1,8 g/100g (Benkerroum *et al.*, 1984). Généralement, les valeurs moyennes pour les composants principaux du babeurre sont : pH : 4,2 ; acidité titrable : 8,2 g en acide lactique ; graisses : 8,9 g/L ; protéines totales : 25,6 g/L ; lactose : 26,9 g/L et matière sèche totale : 89 g/L (Tantaoui-Elaraki et El Marrakchi, 1987).

La croissance des bactéries lactiques conduit à la production de nombreux composés d'arôme et flaveur souhaitables dans les laits fermentés (Steele et Unlu, 1992). Parmi ces composés figurent les acides non volatils, les composés volatils, les composés carbonylés et un groupe hétérogène de substances formées lors de la dégradation des protéines, des graisses et du lactose (Tamine et Robinson, 1999). Quatre composés volatils majeurs ont été généralement trouvés dans le babeurre : l'éthanol, l'acétaldéhyde, l'acétoïne et le diacétyl (Samet-bali *et al.*, 2010).

I.4.4. Source de contamination du babeurre

Les parties liées de la chekoua sont la principale source de contamination du babeurre car elles fournissent de bonnes niches qui peuvent être facilement colonisées par une variété de micro-organismes indésirables, susceptibles de provoquer une amertume et un manque de saveur chez le babeurre. Aucune donnée n'est disponible sur les conditions sanitaires de machines à baratter ou de mélangeurs après leur nettoyage, et une enquête scientifique sur la qualité microbiologique de cet équipement devrait être menée pour garantir la sécurité du produit et du consommateur (Benkerroum et Tamime, 2004).

I.4.5. La microbiologie du babeurre

I.4.5.1. La flore utile du babeurre

Des études de la flore microbienne impliquée dans la fermentation du lait pour obtenir du babeurre ont montré que les bactéries lactiques mésophiles sont responsables de la

fermentation lactique et du développement de l'arôme dans le babeurre ; cette flore microbienne est composée des différentes espèces de *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Lactococcus garvieae* et *Enterococcus durans* (Sarhir *et al.*, 2019). Il est intéressant de souligner que *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides* sont des bactéries lactiques qui fermentent le citrate et qui contribuent à la forte saveur du babeurre. La prédominance du citrate utilisant des lactocoques a également été signalée chez les Omanais et chez les babeurres traditionnels tunisiens (Guizani *et al.*, 2001 ; Ben Amor *et al.*, 1998).

Les moisissures et les levures étaient présentes dans le babeurre à des niveaux modérés ; ils ont principalement été récupérés vers la fin de la fermentation, ce qui peut suggérer qu'ils jouent un rôle secondaire dans le développement des arômes dans le produit. Les espèces de levure prédominantes identifiées au babeurre étaient *Saccharomyces cerevisiae* et *Kluyveromyces marxianus var. marxianus* (Tantaoui-Elaraki *et al.*, 1983).

I.4.5.2. La flore nuisible

Le lait cru utilisé pour la production du babeurre contient une flore microbienne abondante et complexe comprenant des micro-organismes indésirables. Néanmoins, il est fort probable que les bactéries lactiques envahissent les autres groupes microbiens présents dans le lait cru, en particulier ceux qui sont nuisibles pour la santé ou la détérioration, le produit peut alors être considéré comme étant sans danger pour la consommation humaine. Cependant, en raison des mauvaises conditions sanitaires lors de la fabrication et du stockage du babeurre, des micro-organismes nuisibles et pathogènes pourraient être trouvés dans celui-ci. Des études antérieures ont montré la présence des bactéries fécales (coliformes, *Escherichia coli* et streptocoques du groupe D), du *Staphylococcus aureus* et du *Listeria monocytogenes* (Benkerroum et Tamime, 2004).

I.5. Résistance aux β -lactamines

I.5.1. Les β -lactamines

Les β -lactamines sont des antibiotiques qui possèdent un cycle 3-carbone et 1-azote (cycle β -lactame) qui est très réactif. Elles sont actuellement la famille d'agent antibactérien la plus utilisée (Figure 7) pour traiter les infections bactériennes à cause de leur large spectre d'activité et leur faible toxicité (Bush et Bradford, 2016). Leur toxicité majeure est liée à une réponse allergique chez un petit pourcentage de patients qui réagissent à des déterminants de

la chaîne latérale apparentés ; ces réactions sont plus fréquentes avec les pénicillines et les céphalosporines avec une réactivité minimale causée par les monobactames (Moss *et al.*, 1991).

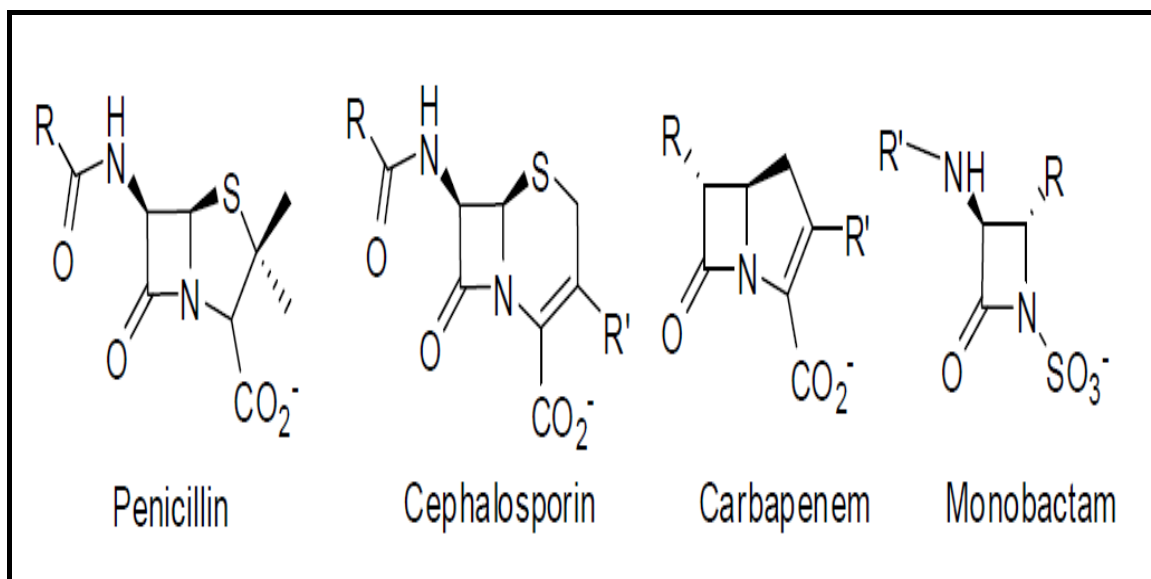


Figure 7. Structure chimique des antibiotiques de la famille des β -lactamines (Zervosen *et al.*, 2012).

I.5.2. Groupe des β -lactamines

La famille des β -lactamines comprend plusieurs groupes (Pandey et Cascella, 2019) :

Pénicillines : Ces antibiotiques contiennent un noyau de cycle d'acide 6-animopénicillanique (lactame plus thiazolidine) et d'autres chaînes du ring. Le groupe comprend les pénicillines naturelles, les agents résistants aux β -lactamases, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines.

Céphalosporines : Ils contiennent un noyau d'acide 7-aminocephalosporanique et une chaîne latérale contenant des cycles 3,6-dihydro-2 H-1,3-thiazane. Les céphalosporines sont traditionnellement divisées en cinq classes ou générations, bien que l'acceptation de cette terminologie ne soit pas universelle.

Carbapénèmes : Leur structure de définition est un carbapénème couplé à un cycle β -lactame qui confère une protection contre la plupart des β -lactamases bien que la résistance à ces composés soit un problème important et se produit principalement parmi les agents pathogènes à Gram négatif (par exemple, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et

Acinetobacter baumannii) qui produisent différentes classes de β -lactamases appelées carbapénémase.

Monobactames : L'anneau β -lactame est isolé et non fusionné à un autre anneau.

Inhibiteurs de la β -lactamase : Ils agissent principalement en inactivant la sérine β -lactamase qui sont des enzymes qui hydrolysent et inactivent le cycle β -lactame (en particulier chez les bactéries à Gram négatif). Ces agents comprennent les inhibiteurs de la β -lactamase de première génération (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam) et les nouveaux avibactam et vaborbactam qui sont actifs contre la carbapénémase tels que la carbapénémase de *Klebsiella pneumoniae* (KPC).

I.5.3. Mode d'action des β -lactamines

Les β -lactames présentent leurs effets bactéricides en inhibant les enzymes impliquées dans la synthèse de la paroi cellulaire. L'anneau β -lactame est stériquement similaire à la D-alanine–D-alanine du pentapeptide NAM, et les protéines de liaison à la pénicilline utilisent «par erreur» le β -lactame comme «élément constitutif» pendant la synthèse de la paroi cellulaire. Il en résulte une acylation de protéine de liaison à la pénicilline (PLP), ce qui rend l'enzyme incapable de catalyser d'autres réactions de transpeptidation. Par conséquent la synthèse de la paroi cellulaire ralentit, l'autolyse des peptidoglycanes constitutifs se poursuit. La dégradation de la muréine entraîne une perméabilité accrue qui provoque la lyse des bactéries (Drawz et Bonomo, 2010).

I.5.4. Mécanisme de résistance aux β -lactamines

Il existe quatre façons principales chez les bactéries pour résister à l'effet bactéricide des β -lactamines (Babic *et al.*, 2006) :

I.5.4.1. Modification des PLPs

La grande majorité des PLPs sont des enzymes sérines à site actif, tout comme la grande majorité des β -lactamases. Le peptidoglycane acylate les PLPs au niveau du résidu de sérine du site actif avant l'étape catalytique qui achève le processus de renouvellement pour les diverses fonctions qu'ils remplissent (par exemple, activités DD-peptidase et transpeptidase). La caractéristique clé de l'inhibition de ces enzymes par les β -lactames, telles que les pénicillines, est qu'elle acyle également la sérine du site actif. Les PLPs modifiées présentent une faible affinité pour les β -lactamines et sont relativement résistants à l'inactivation (Massova et Mobashery, 1998).

I.5.4.2. Diminution de l'expression des protéines de la membrane externe (PME)

Pour accéder aux PLPs sur la membrane plasmique interne, les β lactamines doivent soit diffuser à travers les porines, soit traverser directement dans la membrane externe des parois cellulaires bactériennes à Gram négatif. Des mutations ponctuelles ou des séquences d'insertion dans les gènes codant pour la porine peuvent produire des protéines avec une fonction diminuée et donc une perméabilité inférieure aux β lactamines (Drawz et Bonomo, 2010). Par exemple *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter* spp. contenant des gènes Amp C codés par un plasmide et contiennent une quantité diminuée d'une ou plusieurs porines de membrane externe (OmpK35, OmpK36 ou OmpK37 pour *K. pneumoniae*) (Gootz, 2004).

I.5.4.3. Hyperproduction du système d'efflux

Le système d'efflux actif est composé des protéines transmembranaires ancrées dans la membrane plasmique et externe des bactéries à Gram négatif. Ces pompes sont un déterminant important de la résistance multidrogue dans de nombreux agents pathogènes à Gram négatif, en particulier *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. Des mutations dans les régions régulatrices des opérons des systèmes d'efflux multi-drogues peuvent conduire à une surexpression des systèmes d'efflux constitutifs, qui confère une multirésistance aux antibiotiques (Long *et al.*, 2012).

I.5.4.4. Production de β -lactamases

Les β -lactamases sont des enzymes polyvalentes avec une gamme limitée de structures moléculaires trouvées dans une diversité de sources bactériennes. Leur point commun est la capacité d'hydrolyser des composés chimiques contenant un cycle β -lactame, soit par la formation d'une enzyme acyle avec une sérine de site actif ou via une réaction hydrolytique facilitée par un ou deux ions zinc essentiels dans les sites actifs des métallo- β -lactamases (MBL) (Bush, 2018).

I.5.5. Classification des β -lactamases

Il existe deux principales classifications pour catégoriser les β -lactamases (Tableau 4) : les classes Ambler A, B, C et D, basées sur l'homologie des séquences d'acides aminés et non sur les caractéristiques phénotypiques, et les groupes Bush-Jacoby-Medeiros 1, 2, 3 et 4, basés sur le profil de substrat et d'inhibiteur (Ambler *et al.*, 1991 ; Bush *et al.*, 1995). Dans la classification d'Ambler, les β lactamases des classes A, C et D sont des sérine-lactamases., en revanche, les enzymes de la classe B sont des métallo-lactamases. Par contre, dans la

classification de Bush-Jacoby-Medeiros, il existe quatre groupes principaux et plusieurs sous-groupes dans ce système. Ce schéma de classification est d'une pertinence beaucoup plus immédiate pour le médecin ou le microbiologiste dans un laboratoire de diagnostic car il considère les inhibiteurs de β -lactame (Paterson et Bonomo, 2005).

Tableau 4. Classification des β lactamases (Bush *et al.*, 2019).

Classe Ambler	Groupe Bush-Jacoby-Medeiros	Les substrats	inhibé par	Exemples
A: sérine (variable)	2a: sérine (pénicillinases)	Pénicillines	Clavulanate, avibactam et autres inhibiteurs plus récents	Pénicillinases de bactéries Gram-positives
	2b: sérine (pénicillinases)	Pénicillines et céphalosporines à spectre étroit	Clavulanate, avibactam et autres inhibiteurs plus récents	TEM-1, TEM-2 et SHV-1
	2be: sérine (BLSE)	Pénicillines et céphalosporines, y compris à spectre étendu	Clavulanate, avibactam et autres inhibiteurs plus récents	SHV-2, TEM-10, CTX-M et GES-1
	2br: sérine (résistante aux inhibiteurs)	Pénicillines	Avibactam et autres inhibiteurs plus récents	TEM-30 et SHV-72
	2c: sérine (pénicillinases)	Pénicillines et carbénicilline	Clavulanate, avibactam et autres inhibiteurs plus récents	PSE (CARB)
	2f: sérine (carbapénémases)	La plupart des β -lactames, y compris les carbapénèmes, mais pas les monobactames	Avibactam et autres inhibiteurs plus récents	KPC, SME, NMC-A et GES-2
B: metallo (carbapénémases)	3: metallo (carbapénémases)	La plupart des β -lactames, y compris les carbapénèmes, mais pas les monobactames	Agents chélateurs (EDTA) et ANT431	IMP, VIM et NDM
C: sérine (céphalosporinases)	1: sérine (céphalosporinases)	Pénicillines et céphalosporines	Cloxacilline, avibactam et autres inhibiteurs plus récents	AmpC chromosomique, CMY, ACT-1 et DHA

Suite du tableau

Classe Ambler	Groupe Bush-Jacoby-Medeiros	Les substrats	inhibé par	Exemples
D: sérine (oxacillinases)	2d: sérine (oxacillinases)	Pénicillines et cloxacilline; certains comprennent des céphalosporines et / ou des carbapénèmes	Chlorure de sodium; certains par le clavulanate, l'avibactam et d'autres inhibiteurs plus récents	OXA-1/30, OXA-10, OXA-23 et OXA-48

I.5.5.1. β -lactamases à spectre étendu**I.5.5.1.1. Définition des BLSE**

Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des β -lactamases de classe A selon la classification d'Ambler, et du groupe 2be selon la classification de Bush-Jacoby-Medeiros, les BLSE sont capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines à spectre étroit et de troisième génération et les monobactames (tel que l'aztreonam), les souches productrices de BLSE restent généralement sensibles aux céphamycines (exemple, céfoxitine) et aux carbapénèmes (exemple, imipénème) et sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique (Paterson et Bonomo, 2005).

I.5.5.1.2. Type des BLSE**I.5.5.1.2.1. BLSE de type TEM**

TEM-1 est la première β -lactamase à médiation plasmidique chez les bactéries à Gram négatif qui a été décrite au début des années 1960. Il a été ainsi désigné car il a été isolé de l'hémoculture d'un patient nommé Temoniera en Grèce, TEM-1 est capable d'hydrolyser les pénicillines et les premières céphalosporines telles que la céphalothine et la céphaloridine (Bradford, 2001). Les enzymes TEM-1 se sont répandues dans le monde entier et se trouvent maintenant dans de nombreuses espèces différentes de la famille des *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Hemophilus influenza* et *Neisseria gonorrhoea* (Rawat et Nair, 2010). TEM-3, initialement signalé en 1989, a été la première β -lactamase de type TEM à présenter le phénotype BLSE (Sougakoff *et al.*, 1988).

I.5.5.1.2.2. BLSE de type SHV

Le premier gène *bla_{SHV-1}* a été identifié dans les années 1970 chez *E. coli*. L'enzyme codée par le SHV-1 a prouvé son activité contre les pénicillines et les céphalosporines de

première génération (Liakopoulos *et al.*, 2016) et a été confirmée comme faisant partie du plasmide conjugatif p453 (Barthélémy *et al.*, 1988). L'ancêtre le plus probable du SHV-1 médié par les plasmides est une pénicillinase chromosomique spécifique à l'espèce détectée dans des isolats fécaux de *K. pneumoniae* provenant de nouveau-nés (Haeggman *et al.*, 1997).

I.5.5.1.2.3. BLSE de type CTX-M

Divers rapports suggèrent que les BLSE de type CTX-M pourraient maintenant être en fait les types de BLSE le plus fréquent dans le monde (Livermoore et Paterson, 2006). CTX-M hydrolyse préférentiellement le céfotaxime que la ceftazidime. Plus de 40 enzymes CTX-M sont actuellement connues. En dépit de leur nom, certaines hydrolysent la ceftazidime plus rapidement que le céfotaxime. CTX-M-14, CTX-M-3 et CTX-M-2 sont les plus répandus (Jacoby et Munoz-Price, 2005).

I.5.5.1.2.4. BLSE de type OXA

Les β -lactamases de type OXA appartiennent à la classe D d'Ambler et au groupe fonctionnel 2d de Bush-Jacoby-Medeiros, confèrent une résistance à l'ampicilline et à la céphalothine et se caractérisent par leur activité hydrolytique élevée contre l'oxacilline et la cloxacilline et sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique (Bush *et al.*, 1995). La famille des β -lactamases OXA a été initialement créée en tant que groupe phénotypique plutôt que génotypique pour quelques β -lactamases qui avaient un profil d'hydrolyse spécifique (Bradford, 2001).

I.5.5.1.2.5. Autres types de BLSE

Quelques BLSE ont été rapportées qui ne sont étroitement liées à aucune des familles établies de β -lactamases. La β -lactamase PER-1 a été découverte pour la première fois dans des souches de *P. aeruginosa* isolées de patients en Turquie (Nordmann *et al.*, 1994). Une enzyme apparentée, PER-2, qui présente une homologie de 86% des acides aminés avec PER-1, a été trouvée parmi les souches de *S. enterica* serovar Typhimurium en Argentine. (Bauernfeind *et al.*, 1996). Une autre enzyme qui est quelque peu apparentée à PER-1 est la β -lactamase VEB-1 qui a été trouvé pour la première fois dans un seul isolat d'*E. coli* chez un patient vietnamien, mais a ensuite été également trouvé dans un isolat de *P. aeruginosa* provenant d'un patient thaïlandais (Naas et Nordmann 1999). Une troisième enzyme apparentée est la CME-1, qui a été isolée de *Chryseobacterium meningosepticum* (Rossolini

et al., 1999). Une quatrième enzyme de ce groupe est TLA-1, qui a été identifiée dans un isolat d'*E. coli* provenant d'un patient au Mexique (Silva *et al.*, 2000).

I.5.5.2. β -lactamases de classe C

Les β -lactamases de la classe C (AmpC) sont codées par des gènes chromosomiques ou plasmidiques. Les β -lactamases AmpC sont capables d'hydrolyser les céphalosporines y compris les céphamycines (céfoxitine) ainsi que les pénicillines, mais pas le céfépime. Ces β -lactamases sont résistantes aux inhibiteurs de β -lactamases (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006). Les AmpC-lactamases à médiation chromosomique, ont été décrites chez plusieurs bactéries tel que : *Acinetobacter* spp. *Aeromonas* spp. *Chromobacterium violaceum*, *Citobacter freundii*, *Enterobacter* spp. *E. coli* et *Hafnia alvei*. Par la suite, des β lactamases de classe C à médiation plasmidique ont été découvertes. Ils ont été nommés avec une incohérence typique de la nomenclature des β -lactamases en fonction de la résistance produite aux céphamycines (CMY), à la céfoxitine (FOX) et au moxalactam (MOX) (Philippon *et al.*, 2002).

I.5.5.3. Carbapénémases

Les bactéries à Gram négatif produisant des carbapénémases en particulier sont résistants à tous ou presque tous les β -lactames, tout en portant généralement en même temps des gènes codant pour des mécanismes de résistance contre les fluoroquinolones et/ou les aminoglycosides (Meletis, 2015). Elles peuvent être codées par plasmide ou par chromosome. Les carbapénémases impliquées dans la résistance acquise appartiennent à la classe A d'Ambler (principalement KPC), à la classe B (métallo- β -lactamases [MBL] des types VIM, IMP et NDM) et à la classe D (principalement OXA-48). Les β -lactamases de classe A d'Ambler sont, au moins partiellement, inhibées par des inhibiteurs de β -lactamases tels que l'acide clavulanique et le tazobactam, tandis que les MBL sont inhibées par des chélateurs de cations divalents tels que l'EDTA (Dortet *et al.*, 2012). Les enzymes de classe B sont les carbapénémases les plus importantes sur le plan clinique, ce sont des métallo-enzymes de la série IMP, VIM ou NDM. Ils ont été signalés dans le monde entier, mais principalement en Asie du Sud-Est et en Europe. Les métallo-enzymes, dont les gènes sont localisés dans les plasmides et les intégrons, hydrolysent pratiquement tous les β -lactames sauf l'aztréonam. Enfin, les carbapénémases de classe D sont de plus en plus signalées chez *Acinetobacter baumannii* mais ne compromettent la sensibilité à l'imipénème et au méropénème que de façon marginale (Nordmann et Poirel, 2002).

I.6. Aperçu sur les plantes utilisée

I.6.1. *Artemisia herba-alba* Asso

I.6.1.1. Nomenclature

- **Nom scientifique:** *Artemisia herba-alba* Asso synonyme *Artemisia aethiopica* L., *Artemisia aragonensis* Lam.

- **Noms vernaculaires :** Sagebrush, wormwood (Anglais) ; Armoise blanche (Français) ; Chih, ifsi, Zézzaré (Arabe).

I.6.1.2. Description botanique

Artemisia herba-alba Asso est une plante qui appartient à la famille des *Asteraceae*. L'armoise blanche est une plante vivace, de 20 à 40 cm, avec une odeur caractéristique de thymol. Les feuilles grises des pousses stériles sont pétiolées, de contour ovale à orbiculaire tandis que les feuilles des tiges florifères sont beaucoup plus petites. Les fleurs sont toutes hermaphrodites, réunis dans de très petites capitules, sessiles et brunchs. Les tiges sont rigides et droites. Les bractées extérieures de l'involucre sont orbiculaires, poilues et plus courtes que les bractées intérieures, vertes sur le dos, très effrayantes et glanduleuses. Les fruits sont des akènes (Proksch, 200 ; IUCN, 2005).

I.6.1.3. Répartition géographique

Les plus grandes populations de cette espèce se trouvent dans les zones bioclimatiques arides et semi-arides. Ils poussent sur différents types de sols généralement riches en calcaire. Les peuplements de l'armoise blanche couvrent une superficie estimée à 10 millions d'hectares en Afrique du Nord il forme des steppes plus ou moins ouvertes. Sa gamme s'étend de l'Espagne au Moyen-Orient, en passant par l'Afrique du Nord et l'Egypte ; il est également présent en Iran, et en Afghanistan (Neffati *et al.*, 2017).



Figure 8. Photographie d'*Artemisia herba-alba* Asso (Originale).

I.6.1.4. Utilisation traditionnelle

Dans la médecine traditionnelle, *Artemisia herba-alba* Asso est largement utilisé pour le traitement des troubles gastriques tels que la diarrhée, les crampes abdominales et les troubles intestinaux. Cette plante est utilisée pour traiter les maladies respiratoires, la cicatrisation des plaies externes et les maux des dents. Ainsi, des utilisations pour le diabète sucré et d'autres conditions comme la jaunisse sont également rapportées (Wright, 2002 ; Salah et Jager, 2005).

I.6.1.5. Classification

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermaphytes*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Asterales*

Famille : *Asteraceae*

Genre : *Artemisia*

Espèce : *Artemisia herba alba* Asso (Quezel et Santa, 1963)

I.6.1.6. Données pharmacologiques

Plusieurs recherches sur *Artemisia herba-alba* ont démontré des propriétés antioxydantes (Bourgou *et al.*, 2016), antibactériennes (Lakehal *et al.*, 2016), antifongiques, anti-inflammatoires (Abu-Darwish *et al.*, 2015), antidiabétiques (Ben Jemaa *et al.*, 2015), anti-nociceptives (Qnais *et al.*, 2016), anti-acétylcholinestérases (Younsi *et al.*, 2016), antispasmodiques, anthelminthiques et anti-leishmaniose (Mohamed *et al.*, 2010).

I.6.2. *Thymus algeriensis* Boss. & Reut.

I.6.2.1. Nomenclature

- **Nom scientifique** : *Thymus algeriensis* Boss. & Reut. synonyme *Thymus zattarellus* Pomel, *Thymus algeriensis* var. *masculensis* Maire, *Thymus hirtus* Willd. subsp. *algeriensis* Boiss. & Reut.

- **Noms vernaculaires** : Thym (Français) ; Mezouchan, Mazoukcha (Arabe).

I.6.2.2. Description botanique

Thymus algeriensis Boss. & Reut. est une plante appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Cette famille comprend environ 350 espèces (Neffati *et al.*, 2017). C'est un sous arbrisseau pouvant atteindre plus de 25 cm de long, d'une odeur forte, aromatisante très agréable, c'est une plante à tige ligneuse et ramifiée, présente des feuilles florales peu différentes des feuilles culinaires, peu dilatées, fleurs de 5 à 6 mm groupées en épis courts et étroits. La corolle tubuleuse plus longue que le calice, ce dernier a une lèvre supérieure, tridentée, et une lèvre inférieure à deux divisions étroites et ciliées (Quezel et Santa, 1963).



Figure 9. Photographie de *Thymus algeriensis* Boss. & Reut. (Originale).

I.6.2.3. Répartition géographique

Thymus algeriensis Boss. & Reut. est une plante endémique des zones semi-arides et arides de la Tunisie, l'Algérie, la Lybie, et le Maroc (Neffati *et al.*, 2017).

I.6.2.4. Utilisation traditionnelle

Thymus algeriensis Boss. & Reut. est utilisée, fraîche ou séchée, comme herbe culinaire. Cette plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle contre les maladies du tube digestif et de l'avortement, elle est utilisée comme tonique, anti-inflammatoire, antiparasitaire, antitussifs et carminatifs (Najjaa *et al.*, 2017).

I.6.2.5. Classification

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermaphytes*

Classe : *Eudicotes*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus algeriensis* Boss. Reut. (Quezel et Santa, 1963)

I.6.2.6. Données pharmacologiques

Des études ont rapporté que cette espèce présente des propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-insecticides (Ali *et al.*, 2015), anti-tumorales (Nikolic *et al.*, 2014), et antifongiques (El Ajjouri *et al.*, 2010).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II.1. Cadre de l'étude

Notre étude a été portée sur :

- La valorisation des plantes médicinales dans la région d'El Kantara à la Wilaya de Biskra.
- L'évaluation du risque potentiel et la caractérisation de l'antibio-résistance des souches d'*Enterobacteriaceae* productrices de BLSE isolées à partir du babeurre (L'ben) et du lait cru dans différentes régions de la Wilaya de Batna.
- La mise en évidence de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et la possibilité de leur utilisation comme des bio-conservateurs dans le lait et le babeurre.

Dans ce travail nous avons commencé de faire un inventaire des plantes médicinales spontanées présentes dans la région d'El Kantara utilisées en phytothérapie et dans le domaine alimentaire.

Ensuite, nous avons effectué l'isolement et l'identification moléculaire des souches d'*Enterobacteriaceae* productrices de BLSE, la caractérisation phénotypique de leur résistance aux antibiotiques et enfin, la détermination par méthode moléculaire des gènes de résistance aux β -lactamines et leur séquençage. Les séquences obtenues ont été analysées par le logiciel ChromasPro, et comparées avec les séquences homologues contenues dans la banque de données «GenBank» à l'aide du programme BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Enfin, nous avons mis en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes ; *Artemisia herba-alba* Asso et *Thymus algeriensis* Boss. & Reut. et la détermination de leur composition chimique par CPG-SM.

II.2. Lieux des analyses

Notre étude a été effectuée aux laboratoires à la Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Biskra, et au laboratoire de microbiologie alimentaire de l'Institut National des Sciences Agronomiques et Vétérinaires de l'université de Batna 1, et au laboratoire d'hygiène et de sécurité alimentaire à l'EPSP à Batna.

La technique de la CPG-SM a été effectuée au laboratoire de biotechnologie microbienne de l'université de Tokat, Turquie, et les techniques moléculaires ont été réalisées au laboratoire de DIAG-GENE (Angers, France).

II.3. Etude ethnobotanique

II.3.1. Présentation du site d'étude

La porte du Sud El Kantara s'ouvre sur le Sahara, c'est une oasis située dans la wilaya de Biskra à 50 km au Nord de la ville et dans le Sud-Ouest des Aurès à 80 km de Batna. (Hamouda et Outtas, 2011). La wilaya de Biskra qui se trouve dans le Nord-Est du Sahara algérien, présente une humidité moyenne de 47,5%, une pluviométrie moyenne entre 120 et 150 mm/an et une température moyenne annuelle de 22,7°C, avec une moyenne des minima journaliers de 17,3°C et une moyenne des maxima journaliers de 28,6°C (Station météorologique Biskra, 2018).

La zone de notre étude El-Kantara occupant une superficie de 238,98 km², représente la partie septentrionale de la wilaya de Biskra (Figure 10). Elle est située approximativement au point géographique entre 35° 13' 19" de latitude Nord et 5° 42' 27" de longitude Est. Elle est caractérisée par des reliefs très variés présentant une zone montagneuse au Nord de la ville d'El-Kantara et des terres de moyenne et même de faible altitude au fur et à mesure qu'on s'éloigne vers le Sud (Achoura et Belhamra, 2010).

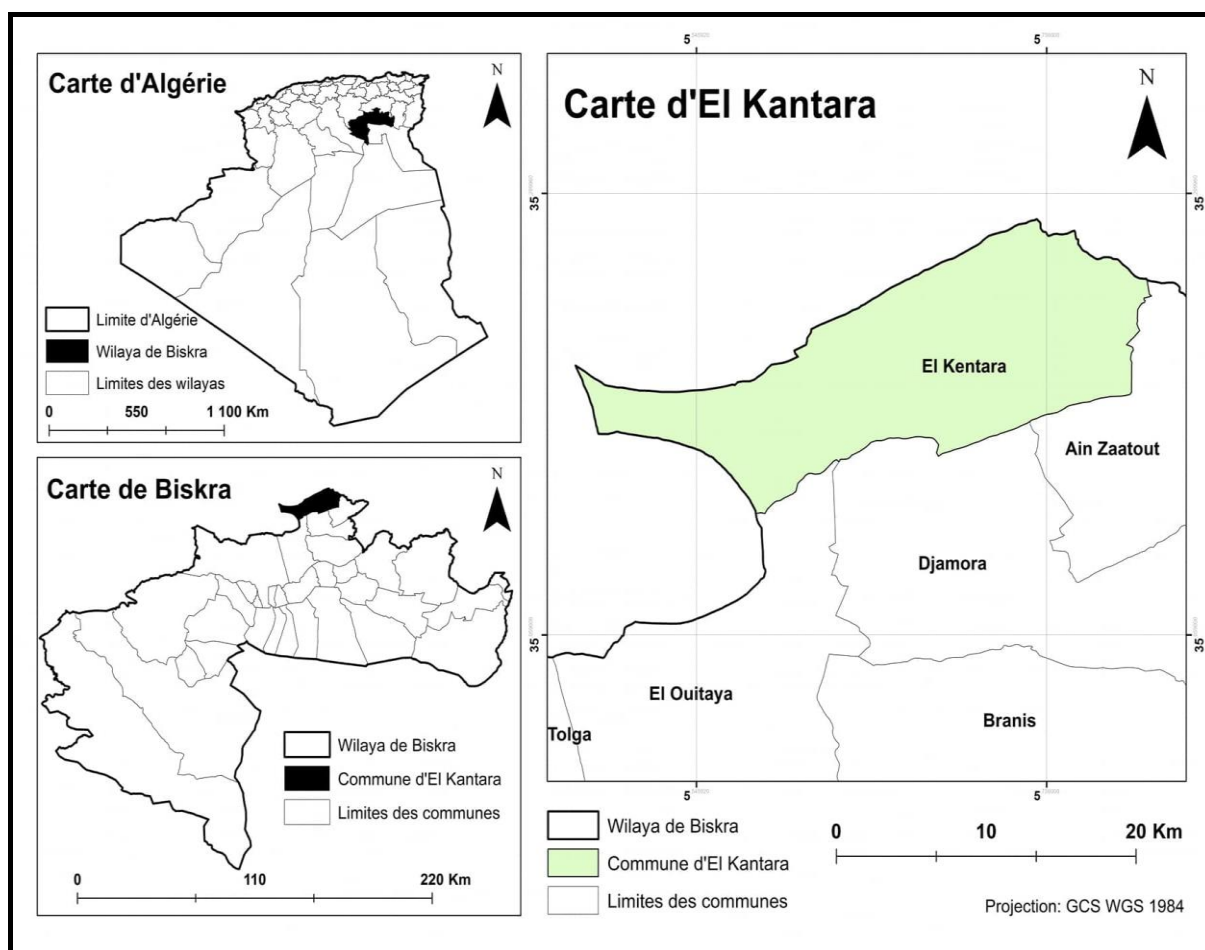


Figure 10. Localisation de la zone d'étude (Originale).

Le défilé célèbre d'El Kantara, étroite déchirure longitudinale dans le Djébel Metlili (1496m d'altitude), permet le passage entre le Tell et les immensités du Sahara. Ce défilé découvre à celui qui vient du Nord toutes les beautés de la première oasis, blottie au pied d'une imposante falaise. Cette gorge constituée par son ouverture sur le désert et par sa richesse en palmiers dattiers, le portail de la transition entre deux régions dont les aspects climatiques carrément sont différents ; le Nord et le Sud algériens (Sedira et Mazouz, 2018). La position géographique de la région d'étude entre les monts des Aurès au Nord et le Sahara au Sud, lui donne un climat subaride à hivers doux (Bord, 2014). Ce climat est influencé relativement par le froid surtout en hiver et par les hautes températures dues aux vents soufflants depuis le sud en été et du sirocco (Achoura et Belhamra, 2010). La sécheresse bioclimatique dure sept mois ; du mois d'Avril jusqu'au mois d'Octobre (Ballais et Ballais, 1989).

II.3.2. Déroulement de l'enquête

Les enquêtes ethnobotaniques ont été effectuées durant la période qui s'étale du Février 2017 jusqu'à Mars 2019 dans la région d'El Kantara afin de collecter des données portant sur l'utilisation indigène des plantes médicinales par la population locale. Les informations ont été obtenues à travers des entrevues ethnobotaniques avec les habitants de cette région ; Il s'agit de vendeurs de plantes médicinales, des guérisseurs, des herboristes, des phytothérapeutes, et des consommateurs. Ces informateurs sont chargés d'identifier les espèces médicinales collectées et de fournir des informations pertinentes à propos de leurs utilisations médicinales (Berlin et Berlin, 2005).

La collecte des données sur les connaissances traditionnelles locales a été faite par deux méthodes : liste libre et entrevues structurées ; un chercheur pourrait demander dans un premier temps à un informateur d'énumérer les noms de toutes les plantes médicinales utilisées et reconnues localement en utilisant la technique de liste libre (Ferreira *et al.*, 2014). Dans cette technique, les informateurs créent un inventaire de toutes les plantes qu'ils connaissent ce qui révèle l'importance culturelle et la variation des connaissances actuelles des individus. Cependant, cette méthode ne fournit pas des informations détaillées et spécifiques (Quinlan, 2005). Pour cela des entrevues structurées à l'aide d'un questionnaire (Annexe 1) ont été réalisées avec l'informateur (Ferreira *et al.*, 2014; Martin, 1995) divisé en deux sections : la première a permis de collecter des données sociodémographiques (sexe, âge, niveau d'éducation, situation familiale), et la deuxième a pour objectif de documenter profondément sur l'utilisation de chaque plante mentionnée par l'informateur (les organes de plantes utilisées, le mode de préparation, le nom vernaculaire,.....). Les entrevues ont été menées en faisant appel à la langue

maternelle de la population locale, l'arabe dialectal. En plus, des visites sur le terrain ont été organisées à l'aide des informateurs pour prélever des spécimens des plantes afin de les identifier.

II.3.3. Identification taxonomique

L'identification taxonomique des espèces a été effectuée à l'aide des documents suivants : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (Quézel et Santa, 1962-1963), La flore de Sahara septentrional et central. (Ozenda, 1958), et Flore et végétation du Sahara. (Ozenda, 1991). Tous les noms binomiaux des espèces médicinales identifiées sont vérifiés dans la base de données The Plant List <http://www.theplantlist.org/>. Les spécimens d'herbier sont disponibles dans l'herbier à l'université de Biskra.

II.3.4. Analyse des données

II.3.4.1. La valeur d'usage (VU)

La valeur d'usage des espèces (VU) (Phillips et Gentry, 1993 modifiée par Rossato *et al.*, 1999), est une méthode quantitative utilisée pour évaluer l'importance d'une plante pour une communauté donnée (Houéhanou *et al.*, 2016). Elle est calculée selon la formule suivante :

$$VU = \sum U/N \text{ où}$$

VU : valeur d'usage d'une ethnoespèce (espèce basée sur des noms populaires).

U : le nombre d'usages d'une espèce mentionnés par un informateur.

N : le nombre total d'informateurs interviewés.

II.3.4.2. Facteur de consensus des informateurs (FCI)

Le facteur de consensus des informateurs (FCI) (Trotter et Logan, 1986 ; Heinrich *et al.*, 1998) est une méthode quantitative (Houéhanou *et al.*, 2016) utilisée pour indiquer l'homogénéité de l'information ethnomédicinale d'une plante spécifique utilisée pour traiter une catégorie particulière d'affections.

Les valeurs de FCI sont variées de 0 à 1. Une valeur élevée (proche de 1) indique que les taxons sont utilisés par une grande partie d'informateurs pour traiter une catégorie de maladies particulières, tandis qu'une valeur faible (proche de 0) indique que les informateurs ne sont pas d'accord sur les taxons à utiliser dans le traitement d'une catégorie de maladie (Heinrich *et al.*, 1998). Le facteur de consensus des informateurs (FCI) est calculé selon la formule suivante :

$FCI = (Nru - Nt) / (Nru - 1)$ où

Nru : nombre de rapports d'utilisation pour chaque catégorie d'utilisation d'une plante particulière.

Nt : nombre de taxons utilisés ou d'espèces utilisées pour cette catégorie d'utilisation des plantes pour tous les informateurs.

II.3.4.3. Niveau de fidélité (NF)

Le niveau de fidélité (NF) (Friedman *et al.*, 1986) est utilisé pour déterminer les espèces végétales fréquemment utilisées par les informateurs pour traiter une catégorie d'affection particulière. Il est calculé en utilisant la formule suivante :

$NF (\%) = (Np / N \times 100)$ où

Np : désigne le nombre d'informateurs citant l'utilisation de la plante pour une catégorie d'affection particulière.

N : le nombre total d'informateurs citant la plante pour une catégorie d'affections quelconque.

II.4. Etude de la résistance aux antibiotiques

II.4.1. Échantillonnage

Dans ce travail nous avons utilisé le babeurre et le lait cru des bovins collectés à partir des laiteries situées dans 23 communes (Annexe 2) à la wilaya de Batna durant une période de 5 mois s'étalant du Septembre 2019 Jusqu'au Janvier 2020. Au total 426 échantillons (243 du babeurre et 183 du lait cru) ont été collectés, puis transportés dans des glacières au laboratoire.

II.4.2. Isolement des bactéries productrices de BLSE

Pour la détection des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE, 0,1 mL du babeurre et du lait cru non pasteurisé de chaque échantillon a été étalé sur gélose MacConkey additionnée de 4 mg/L de ceftazidime (CASFM-EUCAST, 2019). Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Les isolats suspects ont été purifiés et conservés dans des géloses de conservation à 4°C.

Après des tests usuels de bactériologie (examen macroscopique, examen microscopique : examen à l'état frais, coloration de bleu de méthylène et coloration de Gram, quelques tests biochimiques : gélose au TSI « Triple Sugar Iron agar » et indole) ; les isolats ont été menés à une identification moléculaire.

II.4.3. Identification moléculaire des isolats producteurs de BLSE

L'outil universel d'identification moléculaire bactérienne est le séquençage du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S. Il mesure environ 1500 paires de base, il évolue lentement et possède des séquences hautement conservées en 5' et en 3' ce qui permet l'emploi des amorces universelles.

II.4.3.1. L'extraction d'ADN bactérien

L'extraction d'ADN bactérien a été effectuée en utilisant un kit Nucleospin (Macherey-Nagel, Germany) selon le protocole suivant :

1. Préparation de l'échantillon et Lyse des cellules

- Préparer une pré-culture de bactéries pendant 24 heures.
- Transférer une aliquote de la culture dans un tube de prélèvement (2 mL) et ajouter 550 µL du tampon de lyse CF (préchauffé à 65°C).
- Mélanger soigneusement pendant 15 s, ajouter 10 µL de protéinase K et mélanger à nouveau (2–3 s).
- Incuber à 65°C pendant 30 min. Ensuite, centrifuger le mélange pendant 10 min (> 10 000 x g) pour précipiter les contaminants et les débris cellulaires.

2. Préparation de la fixation

- Transférer le surnageant clair issu de la centrifugation dans un tube de microcentrifugeuse capable de contenir au moins 3 volumes d'échantillon.
- Ajouter 1 volume du tampon C4 et 1 volume d'éthanol (par exemple, prélever 300 µL d'échantillon et ajouter 300 µL du tampon C4 et 300 µL d'éthanol).
- Vortexer le mélange pendant 30 s.

3. Transfert sur colonnes et fixation à la membrane

- Pour chaque préparation, prendre une colonne NucleoSpin® placée dans un tube de prélèvement.
- Pipeter 700 µL du mélange sur la colonne.
- Centrifuger pendant 1 min à 11 000 x g.
- Répéter la procédure pour charger l'échantillon restant.

4. Lavage et séchage la membrane de silice

- 1er lavage : pipeter 400 μ L du tampon CQW sur la colonne NucleoSpin®.
- Centrifuger pendant 1 min à 11 000 x g.
- 2ème lavage : pipeter 700 μ L du tampon C5 sur la colonne NucleoSpin®.
- Centrifuger pendant 1 min à 11 000 x g.
- 3ème lavage : pipeter de nouveau 200 μ L de tampon C5 sur la colonne NucleoSpin®.
- Centrifuger pendant 2 min à 11 000 x g afin d'éliminer complètement le tampon C5.

5. Elution de l'ADN

- Placer la colonne NucleoSpin® dans un nouveau tube de microcentrifugeuse de 1,5 mL.
- Pipeter 100 μ L du tampon d'éluion CE (préchauffé à 70° C) sur la membrane.
- Incuber pendant 5 min à température ambiante (18–25°C).
- Centrifuger pendant 1 min à 11 000 x g pour éluer l'ADN.

6. Conservation

- Fermer les tubes, identifier et conserver à +2/8°C pendant 24 heures, puis à <-15°C.

II.4.3.2. La quantification de l'ADN

Le dosage par Nanodrop a été utilisé afin de vérifier la pureté et de déterminer la quantité de l'ADN extraite. Cette analyse a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre type Nanodrop 2000 de Thermo Scientific qui consiste à mesurer l'absorbance des acides nucléiques à la longueur d'onde 260/280nm.

Le résultat quantitatif de l'ADN a été déterminé en ng/ μ L. La pureté de l'ADN a été déterminée par le rapport 260nm/280nm qui doit être compris entre 1,8 et 2. Si ce rapport est $\leq 1,8$, cela signifie une contamination par des protéines. S'il est $\geq 2,0$ il s'agit d'une contamination par des ARN.

II.4.3.3. L'amplification du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S

Le gène codant pour l'ARNr 16S a été amplifié par PCR en utilisant un thermocycleur T100 de Biorad (Biorad, USA). La PCR consiste à amplifier spécifiquement une séquence cible, les réactions d'amplification du gène codant pour l'ARNr 16S ont été réalisées en utilisant les amorces universelles spécifiques suivantes :

63f (forward): 5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3' (Marchesi *et al.*, 1998).

1492R (Reverse) : 5' GGTTACCTTGTTACGACTT 3' (Turner *et al.*, 1999).

Le volume réactionnel pour les mixtures de PCR étant de 25 μL (dont 23 μL du mélange de la réaction et 2 μL d'ADN à amplifier). Le mélange de réaction PCR est décrit dans le tableau suivant :

Tableau 5. Mélange réactionnel utilisé dans la mixture PCR pour la recherche du gène codant l'ARNr 16S.

Réactifs	Concentrations initiales	Concentrations finales	Volume à prélever
Tampon de Taq Promega	5X	1X	5 μL
MgCl ₂	25 mM	1,5 mM	1,5 μL
dNTP	25 mM	0,2 mM	0,2 μL
Amorce 63F	10 μM	0,4 μM	1 μL
Amorce 1492R	10 μM	0,4 μM	1 μL
Taq polymérase Promega	5 U	1 U	0,2 μL
Eau ultra pure	/	/	14,1 μL
ADN à amplifier	/	/	2 μL

L'opération de l'amplification débute par une dénaturation initiale de la matrice d'ADN à 95°C pendant 5 min, ensuite 35 cycles comportant 30 secondes de dénaturation à 95°C, hybridation à 55°C pendant 30 secondes, élongation à 72°C pendant 60 secondes et enfin une élongation finale à 72°C pendant 7 min permettant de terminer la synthèse des brins inachevés. Enfin un refroidissement à 4°C est effectué. La réaction de PCR est validée par un témoin positif et un témoin négatif.

II.4.3.4. Electrophorèse des produits d'amplification

Afin d'évaluer la réussite de l'amplification, les produits de PCR ont été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose (Eurogentec, Belgique) à 1,5% contenant du bromure d'éthidium (BET). Le gel est visualisé par la suite par un transilluminateur gel Doc XR piloté par un ordinateur.

- Pour la préparation du gel, faire dissoudre 1,5 g de poudre d'agarose (Eurogentec, Belgique) dans 100 mL du tampon TBE (Tris-BorateEDTA) 1X. Le mélange est homogénéisé et mis à fondre dans un four à micro-onde jusqu'à l'obtention d'un gel transparent.
- Avant d'être coulé dans une plaque d'électrophorèse horizontale, une solution de bromure d'éthidium (BET) (0,5µg/mL) est ajoutée et mélangée avec le gel d'agarose. Le BET est utilisé comme révélateur des acides nucléiques, il émet une fluorescence lorsqu'il est exposé à une lumière ultraviolette. Les puits dans lesquels les échantillons seront déposés, sont formés par la mise en place des peignes avant la solidification du gel.
- Après polymérisation du gel, ce dernier est placé dans la cuve d'électrophorèse remplie avec le tampon TBE 1X (le gel doit être totalement immergé). Un volume de 5 µL des produits de PCR de chaque échantillon est mélangé avec 1 µL du tampon de charge contenant du bleu de bromothymol, puis déposé dans les puits du gel. Un marqueur de poids moléculaire (Smart ladder Eurogentec, France) est utilisé pour évaluer la taille des bandes présentes.
- La migration est effectuée pendant 20 minutes sous un voltage de 100V afin de visualiser les bandes d'ADN et de vérifier leurs tailles.
- Une photographie du gel déposé sur un transilluminateur UV pour la visualisation des bandes est prise à la fin de la migration. La présence de la bande qui correspond au fragment amplifié est comparée avec le marqueur de poids moléculaire en utilisant le témoin positif. La taille attendue est d'environ 1500 pb.

II.4.3.5. Purification des produits PCR

Les produits PCR ont été purifiés grâce au kit de purification Clean up (Macherey-Nagel, Germany) suivant le protocole décrit par le fournisseur :

1. Préparation de l'échantillon

- Mélanger 1 volume d'échantillon de la réaction PCR avec 2 volumes du tampon NTI (par exemple, mélanger 300 µL de réaction PCR et 600 µL du tampon NTI).

2. Fixation de l'ADN

- Placer un gel NucleoSpin® et une colonne de nettoyage PCR dans un tube de prélèvement (2 mL) et charger jusqu'à 700 µL d'échantillon.
- Centrifuger pendant 30 s à 11 000 x g.
- Jeter l'écoulement et remettre la colonne dans le tube du prélèvement.
- Charger l'échantillon restant si nécessaire et répéter l'étape de centrifugation.

3. Lavage de la membrane de silice

- Ajouter 700 μ L du tampon NT3 au gel NucleoSpin® et à la colonne de nettoyage PCR.
- Centrifuger pendant 30 s à 11 000 x g.
- Jeter l'écoulement et remettre la colonne dans le tube du prélèvement.

4. Séchage de la membrane de silice

- Centrifuger pendant 1 min à 11 000 x g pour éliminer complètement le tampon NT3. Assurez-vous que la colonne de centrifugation n'entre pas en contact avec l'écoulement lors du retrait de la centrifugeuse et du tube du prélèvement.

Remarque : l'éthanol résiduel du tampon NT3 peut inhiber les réactions enzymatiques. L'élimination totale de l'éthanol peut être obtenue en incubant les colonnes pendant 2 à 5 min à 70°C avant l'élution.

5. Elution d'ADN

- Placer le gel NucleoSpin® et la colonne de nettoyage PCR dans un nouveau tube de microcentrifugeuse de 1,5 mL.
- Ajouter 15–30 μ L du tampon NE et incuber à température ambiante (18–25°C) pendant 1 min.
- Centrifuger pendant 1 min à 11 000 x g.

Remarque : la récupération d'ADN de fragments plus gros (> 1000 pb) peut être augmentée par plusieurs étapes d'élution avec un tampon frais, chauffage à 70°C et incubation pendant 5 min.

II.4.3.6. Séquençage

Le séquençage des produits purifiés a été effectué par la méthode de Sanger (Sanger *et al.* 1977) en utilisant le séquenceur automatique ABI Prism 3130xl (Applied Biosystems, USA), et le kit de séquençage BigDye Terminator V3.1 d'Applied Biosystems et les amorces universelles.

II.4.3.6.1. PCR Big Dye

Cette PCR consiste à amplifier les deux amorces le Forward et le Reverse séparément pour les séquencer par la suite. La composition du milieu réactionnel est indiquée dans le tableau 6. L'élongation des amorces est effectuée selon le programme suivant :

- Dénaturation initiale à 94°C pendant 5 min, ensuite 25 cycles comportant :
- Dénaturation à 94°C pendant 15 sec.

- Hybridation à 50°C pendant 5 sec.
- Elongation à 60°C pendant 4 min.
- Refroidissement à 4°C.

Tableau 6. Composition du mélange réactionnel pour la PCR BigDye®.

Composants	Volume
Tampon de BigDye	1,5 µL
Mix BigDye	1 µL
Amorce (Reverse ou Forward)	2 µL
ADN à amplifier	4,5 µL
Eau ultra pure	11 µL
Volume total	20 µL

Mix BigDye est composé de dNTP + ddNTP marqués par des fluorochromes différents + Taq polymérase) (Applied Biosystems, USA).

II.4.3.6.2. Purification

Les produits de la PCR BigDye ont été purifiés par chromatographie d'exclusion sur des colonnes de Sephadex® G50 constituée de billes perforées dont les trous ont un diamètre déterminé de 20 à 50µm. Cette technique permet de piéger les ddNTP libres en excès. En effet ces ddNTP libres non incorporés lors de la réaction de séquençage pourraient parasiter les signaux de fluorescence spécifiques. Les sels éventuellement présents sont piégés de la même manière que les ddNTP.

La purification des produits du PCR BigDye est effectuée en chargeant la résine sèche Sephadex® G-50 dans les puits d'une plaque MultiScreen HV, format HTS comme suit :

- Mettre la résine sèche Sephadex® G-50 dans la plaque MultiScreen HV, ajouter 300µL d'eau ultra pure et laisser incubé 3 heures à température ambiante.
- Une fois les mini-colonnes gonflées dans la plaque MultiScreen, placer cette dernière sur une plaque de micro-titration au format standard 96 puits et centrifuger l'ensemble à 1200 rpm pendant 5min à 10°C pour éliminer l'eau et compacter les mini-colonnes.
- Déposer délicatement les produits de PCR BigDye à purifier au centre des mini-colonnes, et placer la plaque MultiScreen HV sur une deuxième plaque de polypropylène au format

standard 96 et centrifuger (à 1200 rpm pendant 5min à 10°C) pour collecter les produits de PCR purs.

- Cette plaque est ensuite recouverte par un tapis de protection. Ainsi le produit récupéré est prêt à être séquençé.

Les produits purifiés sont ainsi déposés dans un séquenceur automatique ABI Prism 3130xl. Les réactions de séquence passent par de fins capillaires remplis de polymère POP7 sous l'action d'un courant électrique. Les fragments sont séparés en fonction de leurs tailles, les plus petits migrant plus rapidement. Quand les fragments passent devant la cellule de détection, un faisceau laser excite leur fluorescence. Celle-ci est capturée par une caméra couplée à un chargeur qui la convertit en données électriques transférées à l'ordinateur dans le logiciel 3130 Data Collection Software. Les résultats sont visualisés sous forme d'un chromatogramme grâce au logiciel DNA Sequencing Analysis Software ChromasPro.

II.4.3.7. Analyse des séquences

Les séquences obtenues ont été analysées par le logiciel ChromasPro. Les séquences finales sont alors comparées avec celles de la banque de données GeneBank par l'utilisation du Programme BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) de NCBI pour l'identification des isolats étudiés en se basant sur le pourcentage (%) d'homologie avec les souches de référence.

Pour les analyses phylogénétiques et la construction d'arbres phylogénétiques ; les séquences déterminées ont été traitées par le logiciel MEGA-X (Kumar *et al.*, 2018). La construction des topologies des arbres phylogénétiques est faite après l'alignement multisequence par le logiciel ClustalW, en utilisant la méthode de neighbor-joining (Saitou et Nei, 1987) avec le modèle de substitution de Kimura « Kimura's two-parameter » (Kimura, 1980). La validation statistique des liens phylogénétiques établis entre les souches a été effectuée par le test de Bootstrap (Felsenstein, 1985) qui consiste à répéter les tests 1000 fois avant de les valider.

II.4.4. Mise en évidence des gènes de résistance

II.4.4.1. Test de sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques de toutes les souches isolées a été testée par la méthode de diffusion sur disque sur gélose Mueller-Hinton selon les critères cliniques recommandés par le Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) à l'aide de 17 antibiotiques: amoxicilline (20 µg) , ampicilline (10 µg), amoxicilline/acide clavulanique (20/10

μg), céfotaxime (30 μg), ceftazidime (30 μg), céfépime (30 μg), céfoxitine (30 μg), aztréonam (30 μg), ertapénème (10 μg), imipinème (10 μg) chloramphénicol (30 μg), Triméthoprim-sulfaméthoxazole (1,25/23,75 μg), gentamicine (10 μg), amikacine (30 μg), acide nalidixique (30 μg), tétracycline (30 μg), et ciprofloxacine (5 μg).

II.4.4.2. Confirmation phénotypique des souches bactériennes productrices de BLSE

Toutes les souches bactériennes résistantes à la ceftazidime ont été sélectionnées pour déterminer des phénotypes de BLSE. Cette confirmation a été effectuée par le test de synergie à double disque sur gélose Mueller-Hinton entre des disques de ceftazidime, céfotaxime, céfépime et aztréonam distant de 30mm d'un disque central d'amoxicilline/acide clavulanique (Figure 11). La présence de BLSE est suspectée par l'apparition d'un aspect de "bouchon de champagne" (Livermore et Brown, 2001).

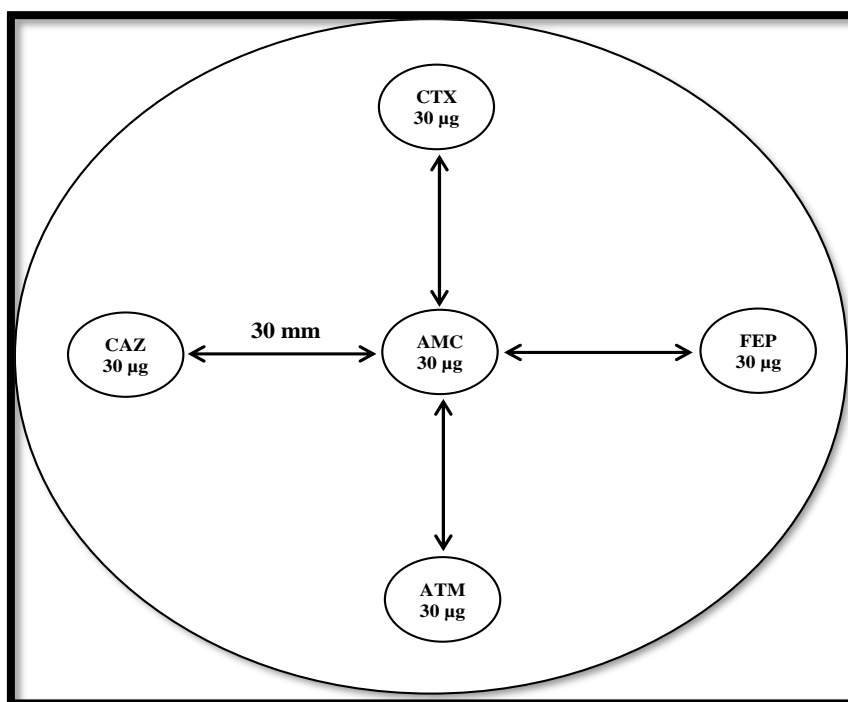


Figure 11. Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie.

II.4.4.3. Identification moléculaire des gènes de résistance (*bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}* et *bla_{TEM}*)

La détection des gènes codants pour les BLSE a été réalisée en amplifiant les gènes *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}* à l'aide des amorces spécifiques décrites dans le tableau 7.

Tableau 7. Amorces utilisées pour l'amplification des gènes de résistance.

Amorce	Sequences	Source	Tm
TEM-2A(F)	CCCCTATTTGTTTATTTTTCT	Kao <i>et al</i> , 2015	55°C
TEM-1B(R)	GACAGTTACCAATGCTTAAT		
SHVS1	ATTTGTCGCTTCTTTACTCGC	Sidjabat <i>et al</i> , 2010	55°C
SHVS2	TTTATGGCGTTACCTTTGACC		
CTX-MF	TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA	Sidjabat <i>et al</i> , 2010	50°C
CTX-MR	CGATATCGTTGGTGGTGCCATA		

L'amplification a été réalisée dans un volume réactionnel de 25 µL comme le mentionne le tableau 8 à l'aide d'un thermocycleur T100 de Biorad (Biorad, USA), et selon les étapes requises de réaction de PCR comprenant une étape de dénaturation initiale de l'ADN double brin pendant 5 min à 95°C. Cette étape est suivie de 35 cycles avec 30 secondes de dénaturations à 95°C, hybridation à 50°C pour CTX et 55°C pour TEM et SHV pendant 45 secondes et élongation à 72°C pendant 1 min. Une étape d'élongation finale de 7 min à 72°C permet de terminer la synthèse des brins inachevés. Finalement un refroidissement à 4°C est effectué.

Le reste des étapes d'électrophorèse, de purification et de séquençage ont été effectuées selon les mêmes étapes que celles de l'identification moléculaire des isolats bactériens. Les séquences des gènes de résistance ont été confirmées avec ARG-ANNOT (Antibiotic Resistance Gene-ANNOTation).

Tableau 8. Mélange réactionnel utilisé dans la mixture PCR pour la recherche des gènes à BLSE.

Réactifs	Concentrations Initiales	Concentrations Finales	Volume à prélever
Tampon de Taq Promega	5 X	1 X	5 µL
MgCl ₂	25 mM	1,75mM	1,75 µL
dNTP	25 mM	0,2 mM	0,2 µL
Amorce F	10 µM	0,5 µM	1,25 µL
Amorce R	10 µM	0,5 µM	1,25 µL
Taq polymérase Promega	5 U	1 U	0,2 µL
ADN à amplifier	/	/	2 µL
Eau ultra pure	/	/	13,35 µL

II.5. Extraction et analyse des principes actifs

II.5.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est les parties aériennes d'*Artemisia herba-alba* Asso et *Thymus algeriensis* Boss. & Reut. Les plantes ont été collectées en Avril 2019 à la région d'El Kantara, wilaya de Biskra. Les plantes ont été séchées à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 15 jours. L'identification botanique a été confirmée par Professeur Oudjehih Bachir à l'université de Batna.

II.5.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. Une quantité de 100g de matériel végétal sec a été placée dans un chauffe ballon avec 1000 mL d'eau distillé puis porté à ébullition pendant 4 heures. L'opération a été répétée plusieurs fois pour obtenir la quantité suffisante pour les analyses ultérieures. L'huile a été conservée à 4°C et à l'obscurité jusqu'à utilisation.

II.5.3. Détermination du rendement des huiles essentielles

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement (Rd) en huile essentielle, est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est représenté par la formule suivante :

$$\text{Rd} = \text{M}'/\text{M}.100$$

Rd : Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%).

M' : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g).

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

II.5.4. Effet des huiles essentielles sur les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE

II.5.4.1. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

La mise en évidence de l'activité antibactérienne des huiles essentielles a été effectuée par la méthode de diffusion sur disque. Cette méthode est généralement utilisée comme une vérification préliminaire de l'activité antibactérienne (Burt, 2004). L'activité antibactérienne a été réalisée comme la décrit Sfeir *et al.* (2013), avec quelques modifications. Les différentes cultures bactériennes jeunes et pures de 18-24h ont été diluées avec de l'eau physiologique stérile pour avoir un inoculum dont la densité finale est ajustée à 0,5 Mc Farland ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 à 625 nm qui correspond à environ 10^8 UFC/mL. La suspension bactérienne de chaque bactérie a été étalée sur la gélose Muller-Hinton en utilisant un écouvillon stérile. Ensuite, des disques stériles du papier Wathman N°3 de 6 mm de diamètre ont été déposés sur la surface des boîtes, puis injectés avec 15 µL de l'huile essentielle.

Des disques imprégnés de DMSO ont été également utilisés comme témoin négatif. Les boîtes ont été maintenues à la température du laboratoire pendant 30 min afin de permettre la pré-diffusion de l'huile essentielle. Ensuite, elles ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Tous les tests ont été répétés trois fois pour calculer les moyennes et l'écart type de la moyenne.

La lecture a été faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches (Sfeir *et al.*, 2013) :

- Non sensible ou résistante (-) : diamètre < 8mm.
- Moyennement sensible (+) : diamètre compris entre 8 à 14mm.

- Sensible (++) : diamètre compris entre 14 à 20mm.
- Très sensible (+++) : diamètre supérieur à 20 mm.

II.5.4.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La micro-dilution est généralement effectuée dans des plaques de 96 puits à fond arrondi (Kahlmeter, 2014). La détermination du CMI a été effectuée selon la méthode décrite par Oke *et al.* (2009) avec quelques modifications. Une solution mère de l'huile essentielle a été préparée dans le DMSO à 10%, puis des dilutions en série ont été faites dans la microplaque de 96 puits. 90µL de bouillon Mueller Hinton a été incorporé puisensemencé par 10 µL de l'inoculum bactérien standardisé. Tous les essais ont été répétés trois fois. Un contrôle positif contenant 10 µL d'inoculum et 190 µL de bouillon Muller-Hinton. Un témoin négatif contenant 100 µL de l'huile essentielle dissoute dans 10% du DMSO et 100 µL de bouillon Muller-Hinton sans inoculum ont été préparés. Les plaques ont été recouvertes et incubées à 37°C pendant 24 heures. La CMI a été définie comme la concentration minimale de l'huile pour laquelle on n'observe pas de croissance visible à l'œil nu.

II.5.4.3. Détermination de la Concentration Minimale bactéricide (CMB)

Afin de déterminer la CMB, 10 µL de chaque puit (dans lequel aucune croissance bactérienne n'a été observée) a été étalé sur gélose Muller Hinton (Sfeir *et al.*, 2013), les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h. La CMB a été défini comme la concentration la plus basse à laquelle les bactéries ne sont pas développées. Tous les tests ont été répétés trois fois pour calculer les moyennes et l'écart type de la moyenne.

II.5.5. Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM)

L'analyse a été réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse Trace 1310 équipé d'un spectromètre de masse à un quadripôle ISQ (Thermo Fisher Scientific, Austin, TX). La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne CG Thermo TG-5MS (30 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm). L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de 1,2 mL/min). Un volume d'injection de 1 µL a été utilisé en mode split (20 :1). La température de la colonne a été programmée à 60°C pendant 6 minutes, puis augmenté de 2°C/min en raison d'atteindre une température de 230°C, puis maintenue à ce degré pendant 30 minutes. Le détecteur de masse était configuré avec un mode d'impact électronique à une tension d'ionisation de 70 eV et la source d'ions et la température du détecteur étaient de 250°C. La plage de balayage du spectre de masse a été fixée à une vitesse de 55 à 550 m/z.

Les indices de rétention ont été calculés pour tous les composants en utilisant une série homologue de n-alcanes injectés dans le même équipement dans des conditions analytiques identiques comme décrit ci-dessus. Les quantités relatives des composants individuels des huiles essentielles totales sont exprimées en pourcentage de la surface du pic par rapport à sa surface totale (Pimentel *et al.*, 2018). De plus, la quantification a été effectuée par une méthode standard externe en utilisant des courbes d'étalonnage générées en exécutant une analyse GC de composés représentatifs.

Les composés des huiles essentielles ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse (min) avec l'équipement de leur bibliothèque de spectres de masse (base de données WILLEY et NIST), et de leurs indices de rétention (IR) avec ceux rapportés dans la littérature (Adams, 2001 ; Babushok *et al.*, 2011).

II.6. Etude statistique

Les valeurs des moyennes et les écarts types (SD) des données expérimentales, ainsi que l'analyse unidirectionnelle de la variance (ANOVA) à un facteur combiné au test de Tukey ont été effectués pour déterminer les différences significatives ($P < 0,05$) entre les moyennes. Les analyses ont été effectuées en utilisant le logiciel Graph pad prisme 7.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III.1. Etude ethnobotanique

Cette étude est la première enquête ethnobotanique dans la région d'El Kantara, porte du Sahara Algérien, elle a été menée pour mettre en évidence la diversité des plantes médicinales utilisées par la population locale pour établir un catalogue de plantes médicinales sauvages traditionnelles utilisées en phytothérapie et dans le secteur alimentaire. Quarante-vingt-quinze (95) personnes interrogées ont indiqué la partie des plantes utilisées, leurs utilisations traditionnelles et leurs différentes méthodes de préparation (Tableau 9).

Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara

Nom scientifique (Numéros du spécimen) et famille	Nom vernaculaire	Partie utilisées	Méthode d' utilisation	Utilisation recommandée	VU
Amaranthaceae					
<i>Atriplex halimus</i> L. AMA-017-4-2017	لقطف Lguetaf	Feuille	Décoction, cataplasme	Inflammation des intestins, mains gercées, régule les hormones	0,14
<i>Haloxylon stocksii</i> (Boiss.) Hook. f. AMA-033-4-2019	رمث Rameth	Partie aérienne	Décoction, maceration, cataplasme	Indigestion, morsure de scorpion, maladies de la peau, plaie, scabicide	0,29
Pistacia atlantica Desf.					
ANA-051-4-2017	بطم Betom	Feuille	Décoction	Antidiarrhéique, ulcère gastrique	0,09
<i>Pistacia lentiscus</i> L. ANA-052-4-2019	ضرو Daraw	Feuille	Infusion, huile	Antitussif, brûlure de la peau, douleur articulaire, allergie cutanée	0,34
Rhus tripartita DC.					
ANA-055-4-2019	لجدارى، ضمع Ljdary, Dhmakh	Racine, fruit	Décoction	Irritation cutanée, problème respiratoire	0,11
Apocynaceae					
<i>Nerium oleander</i> L. APO-040-4-2018	دقفة Dafla	Feuille	Décoction, poudre	Leishmaniose, maladies de la peau	0,11
<i>Periploca laevigata</i> Aiton APO-049-4-2019	لحلاب L' halab	Racine	Cataplasme, poudre	Bronchite	0,03

Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara (suite)

Nom scientifique (Numéros du spécimen) et famille	Nom vernaculaire	Partie utilisées	Méthode d' utilisation	Utilisation recommandée	VU
Asclepiadaceae					
<i>Pergularia tomentosa</i> L. ASC-050-8-2017	العقاة El ghalga	Fruit	Cataplasme, décoction	Maux des dents, anti-rhumatismale	0,06
Asteraceae					
<i>Artemisia campestris</i> L. AST-014-4-2018	تققت Tegoufat	Partie aérienne	Infusion, poudre	Morsures de serpent et de scorpion, douleurs menstruelles, anthelminthique, antipyrétique	0,27
<i>Artemisia herba-alba</i> Asso AST-015-4-2017	شبح Chih	Partie aérienne	Infusion, inhalation	Gaz intestinal, indigestion, antidiabétique, circulation sanguine, anthelminthique, maladies respiratoires, douleur du côlon, maux des dents, antipyrétique	1,26
<i>Calendula arvensis</i> M.Bieb. AST-019-4-2017	لولوشة، جمره Loloucha, diamra	Feuille, fleur	Infusion, cataplasme	Cicatrisation des plaies, brûlure	0,05
<i>Chrysanthemum macrocarpum</i> Coss. & Kralik ex Batt. AST-022-4-2017	بيشة، لبيشة Babicha Lobiabicha	Sommité fleurie	Infusion	Nervosité, douleurs menstruelles, antipyrétique, maladies respiratoires, antidiabétique	0,48
<i>Echinops spinosus</i> L. AST-027-5-2018	تسكرة Tesakra	Racine, Fleur	Cataplasme, poudre	Anti-rhumatismale, stérilité féminine	0,09

Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara (suite)

Nom scientifique (Numéros du spécimen) et famille	Nom vernaculaire	Partie utilisées	Méthode d' utilisation	Utilisation recommandée	VU
<i>Launaea nudicaulis</i> (L.) Hook.f. AST-035-4-2019	بوشيك Boushikh	Feuille	Mastication	Constipation, vomissement	0,07
<i>Pallenis spinosa</i> (L.) Cass. AST -045-4-2019	كبر من بوه Kbar men bouh	Partie aérienne	Infusion, décoction	Antidiabétique, douleur gastrique, calculs rénaux	0,08
<i>Scorzonera undulata</i> Vahl AST-059-4-2017	الغيز El gize	Fleur, Racine	Mastication, infusion	Soigne la gingivite, anti diarrhéique	0,06
<i>Sonchus oleraceus</i> L. AST-061-4-2019	تفاف Tefaf	Feuille, racine	Décoction	Maux du ventre, verrues	0,06
<i>Taraxacum laevigatum</i> DC. AST-064-4-2017	ضرسة لعجوز Dorsat laadjouz	Feuille, tige	Mastication	Antitussif	0,03
Brassicaceae					
<i>Eruca sativa</i> (L.) Mill	الحرارة	Graine,	Poudre,	Perte d'appétit, indigestion	0,07
<i>Eruca vesicaria</i> (L.) Cav. BRA -029-4-2019	الهرفي El harfi	Partie aérienne	Décoction	Constipation	0,03

Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara (suite)

Nom scientifique (Numéros du spécimen) et famille	Nom vernaculaire	Partie utilisées	Méthode d' utilisation	Utilisation recommandée	VU
Cactaceae					
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill. CAC-043-7-2017	الهدى El hendi	Fruit Feuille	Cataplasme, mastication	Constipation	0,36
Capparaceae					
<i>Capparis spinosa</i> L. CAP-021-4-2019	كبار Kabbar	Feuille	Cataplasme	Faiblesse, douleur intestinale, antidiarrhéique, maladie de la peau, rhume, indigestion	0,29
<i>Cleome Arabica</i> L. CAP-024-4-2017	التينة El notina	Partie aérienne	Inhalation	Problèmes du système respiratoire	0,03
Caryophyllaceae					
<i>Paronychia argentea</i> Lam. CAR-047-4-2019	فتاتة لحجر Fatatet lahedjar	Partie aérienne	Décoction	Calculs rénaux	0,42
Cucurbitaceae					
<i>Ecballium elaterium</i> (L.) A.Rich. CUC-026-4-2017	فوس الحمبر Fagos Ihemir	Racine	Maceration dans l' huile	Anti-rhumatismale	0,10
Cupressaceae					
<i>Juniperus phoenicea</i> L. CUP-034-4-2019	عرعار Araar	Feuille, fruit	Poudre, décoction	Antidiarrhéique, anthelminthique, maux d'estomac, maux de tête, douleurs abdominales	0,74

Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara (suite)

Nom scientifique (Numéros du spécimen) et famille	Nom vernaculaire	Partie utilisées	Méthode d' utilisation	Utilisation recommandée	VU
Fabaceae					
<i>Astragalus armatus</i> Willd.	كاد	Racine	Décoction	Maux d'estomac, gaz intestinaux	0,05
<i>Genista microcephala</i> Coss. & Durieu FAB-031-4-2019	شديدة Chedida	Partie aérienne	Infusion	Diurétique	0,03
<i>Retama raetam</i> (Forssk.) Webb & Berthel FAB-054-4-2017	رطم Retam	Partie aérienne	Infusion, poudre, cataplasme	Anti-rhumatismale, morsure de scorpion et serpent, plaies, cicatrisation, stérilité féminine	0,30
Lamiaceae					
<i>Ajuga iva</i> (L.) Schreb. LAM-013-4-2017	شندفورة Chandgoura	Feuille, fleurs	Infusion, décoction	Maux de tête, antidiabétique, troubles rénaux	0,21
<i>Ballota nigra</i> L. LAM-018-4-2018	العصاص EL ghasas	Feuille	Inhalation	Saignement du nez	0,04
<i>Lavandula multifida</i> L. LAM-036-4-2018	تاي الجبل، زريقة Tay djebel, Zeriga	Partie aérienne	Infusion	Grippe, hypotensive	0,18
<i>Marrubium alysson</i> L. LAM-038-4-2019	تمريرة Tameriwa	Partie aérienne	Infusion	Antitussif, antipyrétique, bronchite, régule la glycémie, maux de tête, acné	0,70

Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara (suite)

Nom scientifique (Numéros du spécimen) et famille	Nom vernaculaire	Partie utilisées	Méthode d' utilisation	Utilisation recommandée	VU
Euphorbiaceae					
<i>Euphorbia peplus</i> L.	لبينة	Latex	Application	Verrues	0,06
Mentha pulegium L.					
LAM-039-4-2019	فليو Flio	Partie aérienne	Infusion	L'indigestion, anthelminthique, antipyrétique, favorise la menstruation, la grippe	0,56
Rosmarinus officinalis L.					
LAM-056-4-2019	اكليل الجبل Ikilil jabal	Partie aérienne	Infusion	Douleurs abdominales, antidiarrhéique, gaz intestinaux, maux de tête, maux d'estomac	1,14
Sideritis incana L.					
LAM-060-4-2019	رطيمة Rotaimya	Partie aérienne	Douche	Allergie de la peau	0,03
Teucrium polium L.					
LAM-065-4-2017	خياطة Khayata	Feuille	Infusion, poudre	Brûlures d'estomac, cicatrisation des plaies, ulcère d'estomac	0,57
Thymus algeriensis Boiss. & Reut.					
LAM-068-4-2018	مزوشن Mezouchane	Feuille, fleur	Infusion	Douleurs d'estomac, antihypertension, maladies cardiaques, intoxication alimentaire, douleurs abdominales, infection des plaies	0,75
Liliaceae					
<i>Urginea maritima</i> Baker					
LIL-069-4-2019	العنصل L' onssol	Bulbe	Pommade	Douleur articulaire, anti-rhumatismale	0,20

Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara (suite)

Nom scientifique (Numéros du spécimen) et famille	Nom vernaculaire	Partie utilisées	Méthode d' utilisation	Utilisation recommandée	VU
Malvaceae					
<i>Malva sylvestris</i> L. MAL-037-4-2017	الخبيز El khobiz	Partie aérienne	Infusion, cataplasme	Eczéma, anti-rhumatismale, brûlure d'estomac, anthelminthique	0,37
Oleaceae					
<i>Olea europaea</i> L. OLE-041-4-2019	زيتون بري، زوج Zitoun bari, zabouj	Feuille Fruit	Infusion, huile	Soigne la gingivite Élimine les calculs biliaires, la constipation, les maladies des voies respiratoires, douleur de menstruation	0,34
Oxalidaceae					
<i>Oxalis pes-caprae</i> L. OXA-044-4-2017	حميضة Hodayda	Partie aérienne	Infusion, mastication	Apte buccal, apéritif, maux d'estomac	0,06
Papaveraceae					
<i>Papaver rhoeas</i> L. PAP-046-4-2017	بوقرعون، قبابوش Bougaroune, kbabouche	Fleur	Infusion	Bronchite, antitussif, douleur abdominale	0,14
Plantaginaceae					
<i>Globularia alypum</i> L. PLA-032-4-2019	تسلغة Tselgha	Partie aérienne	Infusion	Maux de tête, antipyrétique, maux d'estomac, intoxication, indigestion, douleurs de la vésicule biliaire	0,27

Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara (suite)

Nom scientifique (Numéros du spécimen) et famille	Nom vernaculaire	Partie utilisées	Méthode d' utilisation	Utilisation recommandée	VU
Poaceae					
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers. POA-025-4-2017	نجم، قزمير Nedim, guezmir	Racine	Décoction	Infection des voies urinaires	0,03
<i>Stipa tenacissima</i> L. POA-062-4-2019	حفة Halfa	Feuille	Décoction	Antihypertension	0,04
Polygonaceae					
<i>Rumex simpliciflorus</i> Murb. POL-057-4-2017	حميضة الشاوية Homaidhat echaouia	Plante entière	Infusion	Indigestion	0,03
Resedaceae					
<i>Reseda lutea</i> L. RES-053-4-2017	ذيل لخروف Dil lekherouf	Partie aérienne	Infusion	Antidiarrhéique, intoxication alimentaire	0,05
Rhamnaceae					
<i>Ziziphus lotus</i> Lam. RHA-070-8-2017	سدر، نوق Sedra, nebag	Feuille, Fruit	Décoction, mastication	Brûlures d'estomac, constipation, faiblesse cardiaque, allaitement des femmes	0,31

Tableau 9. Liste des plantes médicinales sauvages utilisées dans le traitement de diverses maladies humaines dans la région d'El Kantara (suite)

Nom scientifique (Numéros du spécimen) et famille	Nom vernaculaire	Partie utilisées	Méthode d' utilisation	Utilisation recommandée	VU
Rutaceae					
<i>Ruta Chalepensis</i> L. RUT-058-4-2017	فيجل Fyjal	Feuille, graine	Cataplasme, infusion, poudre	Douleurs articulaires, gaz intestinaux, rhumatisme, morsure de scorpions, rhume, nervosité, gonflement des reins	0,45
Tamaricaceae					
<i>Tamarix gallica</i> L. TAM-063-4-2019	طرفة Tarfa	Feuille, branche	Décoction	Anti-rhumatismale, poux, soigne la gingivite	0,09
Thymelaeaceae					
<i>Thymelaea hirsute</i> (L.) Endl. THY-067-4-2017	مثنان Methenan	Feuille	Poudre, infusion	Constipation	0,05
Umbelliferae					
<i>Thapsia garganica</i> L. UMB-066-4-2017	درياس، بونافع Daryas	Racine	Cataplasme, maceration	Anti-rhumatismale, gonflement du ventre	0,35
Zygophyllaceae					
<i>Peganum harmala</i> L. ZYG-048-4-2017	حرملة Harmal	Feuille, graine	Maceration, cataplasme	Anti-rhumatismale, antipyrétique, anthelminthique, maladies oculaires, douleur articulaire, toux, nervosité	0,42

III.1.1 . Diversité des plantes médicinales

L'*Asteraceae* est la famille la plus dominante avec 13 espèces (21,66%) suivie de la famille des *Lamiaceae* avec 9 espèces (15%). *Anacardiaceae* et *Fabaceae* sont classées en troisième position avec 3 espèces (5%). *Amaranthaceae*, *Apocynaceae*, *Brassicaceae*, *Cucurbitaceae*, *Capparaceae*, *Poaceae* et *Polygonaceae* viennent ensuite avec 2 espèces pour chaque famille (3,33%). Les autres sont représentées chacune par une espèce (1,67%) (Figure 12).

Nos résultats coïncident avec les travaux de Nawash *et al.* (2013) et Cussy-Poma *et al.* (2017) qui rapportent la dominance de la famille des *Asteraceae* suivie des *Lamiaceae*. Boudjelal *et al.* (2013) ; Benarba *et al.* (2015) ; Corbineau *et al.* (2018) et Miara *et al.* (2019a) ont constaté dans leurs travaux que les *Lamiaceae* et les *Asteraceae* sont les familles les plus prédominantes. Cette prédominance a été observée dans la région méditerranéenne (Gonzalez-Tejero *et al.*, 2008).

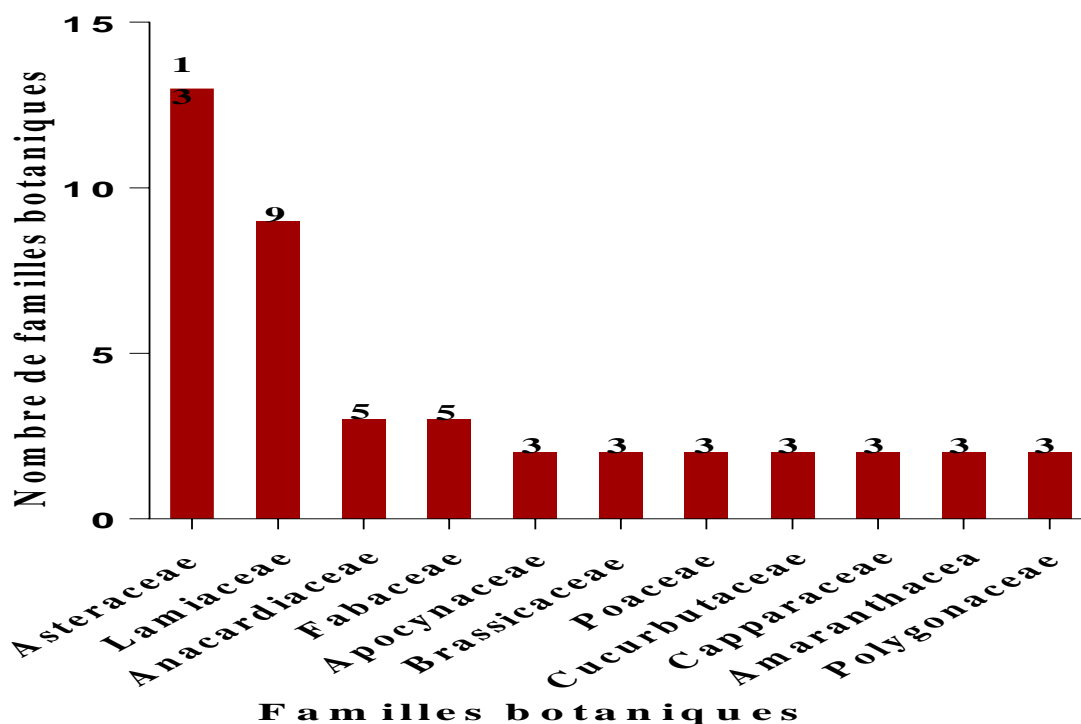


Figure 12. Les familles botaniques des plantes médicinales les plus trouvées.

III.1.2. Méthode d'utilisation

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la préparation des plantes médicinales (Figure 13) ; les résultats ont indiqué que l'infusion (28,74%) est principalement utilisée par les

autochtones. Güler *et al.* (2015) et Miara *et al.* (2019b) ont enregistré une prédominance de l'infusion. La décoction (20,69%), le cataplasme (17,24%) et la poudre (11,49%) sont utilisés couramment par la population locale. Les méthodes de préparation restantes : mastication (8,04%), macération (4,6%), inhalation (3,45%), huile (2,3%), bain (1,15%), pommade (1,15%) et application locale (1,15%) sont utilisés moins.

Il est à noter qu'il est difficile de faire la distinction entre l'infusion et la décoction dans plusieurs cas (Bonet *et al.*, 1999). Cependant, la population locale d'El Kantara sait faire la différence correctement entre les deux méthodes.

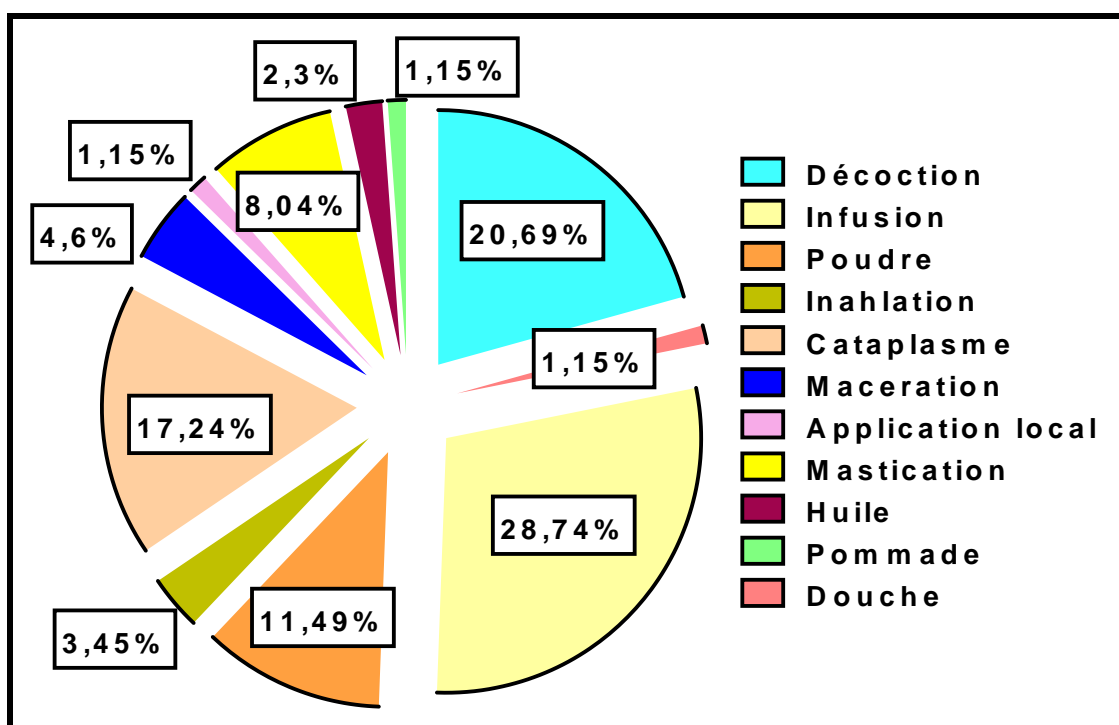


Figure 13. Méthodes de préparation des plantes médicinales.

III.1.3. Parties utilisées

La plante entière et ses différentes parties sont utilisées pour le traitement de plusieurs maladies (Figure 14). Les feuilles (30,26%) sont la partie la plus fréquemment citée, suivie de la partie aérienne (25%). Les autres parties des plantes utilisées sont en ordre décroissant : fleurs (y compris les sommités fleuries) (13,15%), les racines (11,84%), les fruits (9,21%), les graines (3,94%), la bulbe (1,31%), les tiges (1,32%), le latex (1,32%), les branches (1,32%) et la plante entière (1,32%).

L'utilisation des feuilles comme partie principale de cette étude a souvent été documentée dans plusieurs études (Bibi *et al.*, 2014; Benarba *et al.*, 2015; Miara *et al.*, 2019a). De plus,

certaines enquêtes menées dans le désert comme le rapport de Yaseen *et al.* (2018) dans le désert du Sindh au Pakistan, et celui d'Idm'hand *et al.* (2020) dans la région de Tarfaya au Maroc ont montré l'utilisation des feuilles comme partie principale des plantes. Cette fréquence d'utilisation des feuilles peut s'expliquer par la synthèse de nombreuses classes de composés bioactifs qui sont pharmacologiquement actives contre de nombreuses maladies (Francis Xavier *et al.*, 2015).

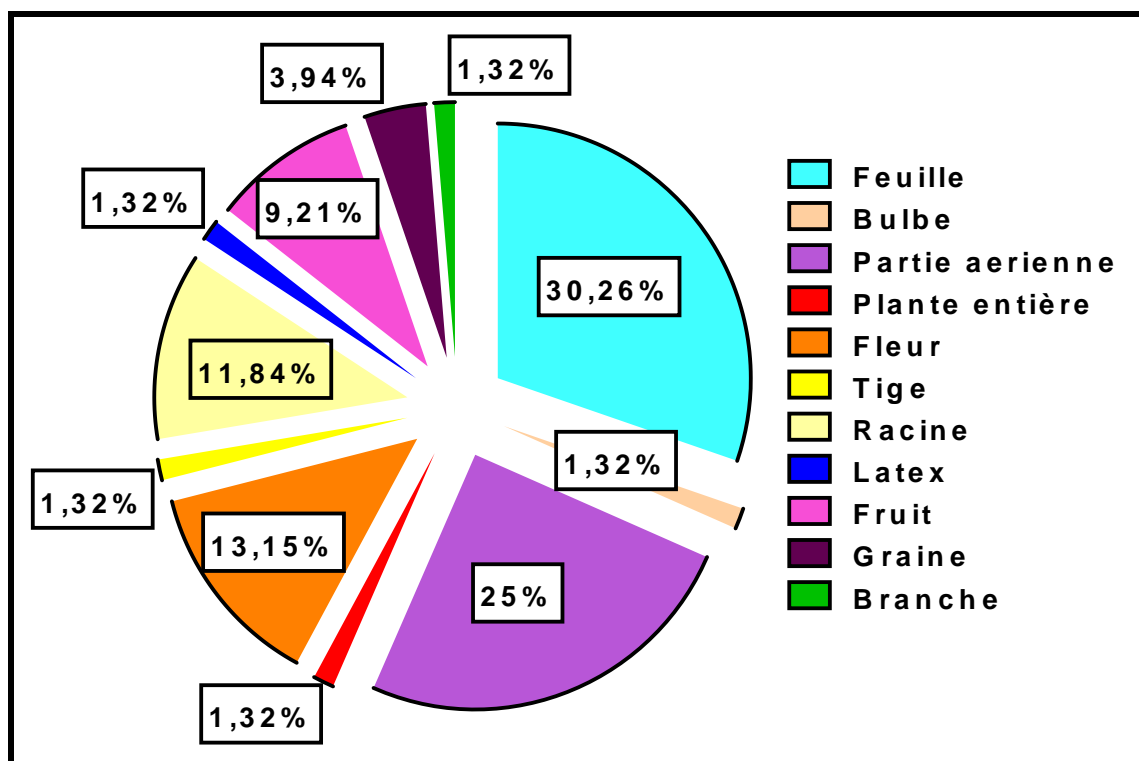


Figure 14. Parties utilisées de plantes médicinales.

III.1.4. Profil sociodémographique des informateurs

III.1.4.1. Utilisation des plantes médicinales selon le sexe

34 hommes et 61 femmes ont été interrogés dans le cadre d'une enquête. Les femmes prédominent avec (64,21%) tandis que les hommes ne représentent que (35,79%) (Figure 15).

Bouasla et Bouasla (2017) ont constaté la prédominance des femmes parmi les informateurs interrogés dans la région de Skikda, dans l'Est du pays ; ces auteurs ont indiqué que cette prédominance est probablement due à l'occupation des femmes de préparer des recettes à base de plantes pour les membres de la famille, d'une part, et d'autre part que les connaissances ont été transmises d'une génération à une autre, de mère et fille.

De plus, Jouad *et al.* (2001) ont expliqué cette prédominance car les femmes sont plus attachées que les hommes à tout ce qui est traditionnel, ainsi que la facilité de la transmission des informations entre femmes.

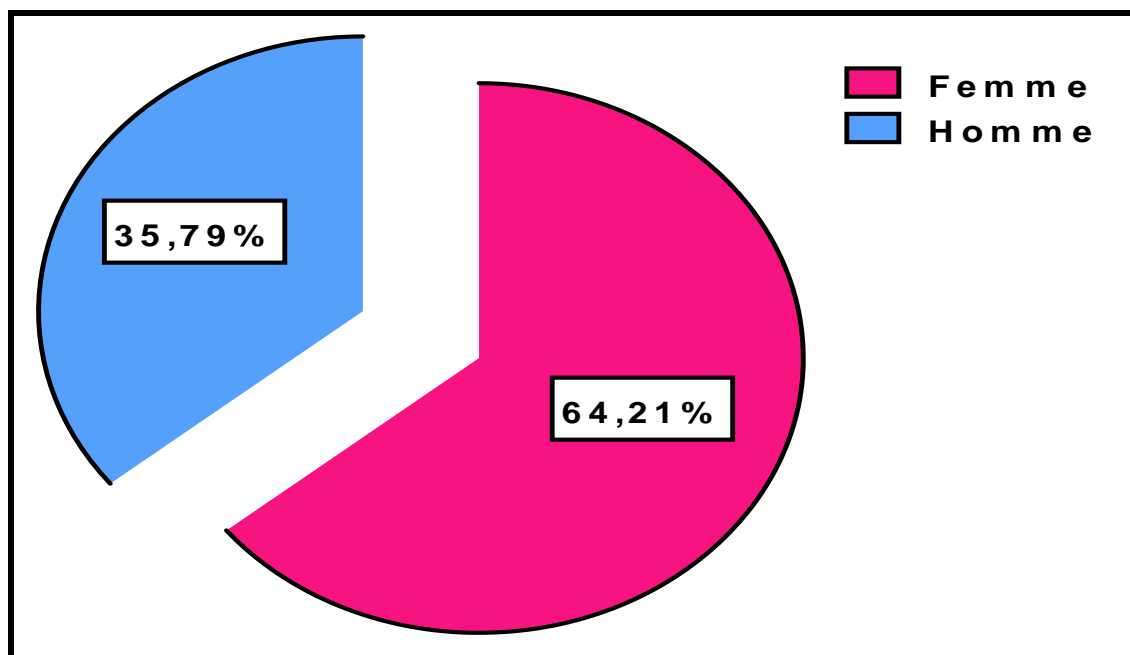


Figure 15. Utilisation des plantes médicinales selon le sexe.

III.1.4.2. Utilisation des plantes médicinales selon l'âge

La classe d'âge de 40-49 ans est la plus importante dans cette étude (48,42%), suivie par les classes d'âge ≥ 60 , 30-39, 50-59, 20-29 avec (17,9%), (15,79%), (13,68%) et (4,21%) respectivement (Figure 16).

En comparant la dominance de la classe d'âge de 40-49 ans dans la présente étude avec les classes d'âges des études antérieures, nous remarquons que l'utilisation des plantes médicinales était plus importante dans les catégories d'âge de plus de 60 ans (Güler *et al.*, 2015; Bouasla et Bouasla, 2017; Miara *et al.*, 2019b; Vinagre *et al.*, 2019).

Bouasla et Bouasla (2017) ont expliqué la prédominance de la classe d'âge : >60 ans que les personnes âgées ont plus de connaissances, ce qui est dû à leur expérience accumulée avec l'âge et transmission d'une génération à l'autre.

En effet, la prédominance des informateurs appartenant à la classe d'âge de 40-49 ans dans cette enquête ethnobotanique peut s'expliquer par la transmission des connaissances autochtones d'une génération à l'autre, ce qui permet de conserver des informations ethno-médicinales précieuses.

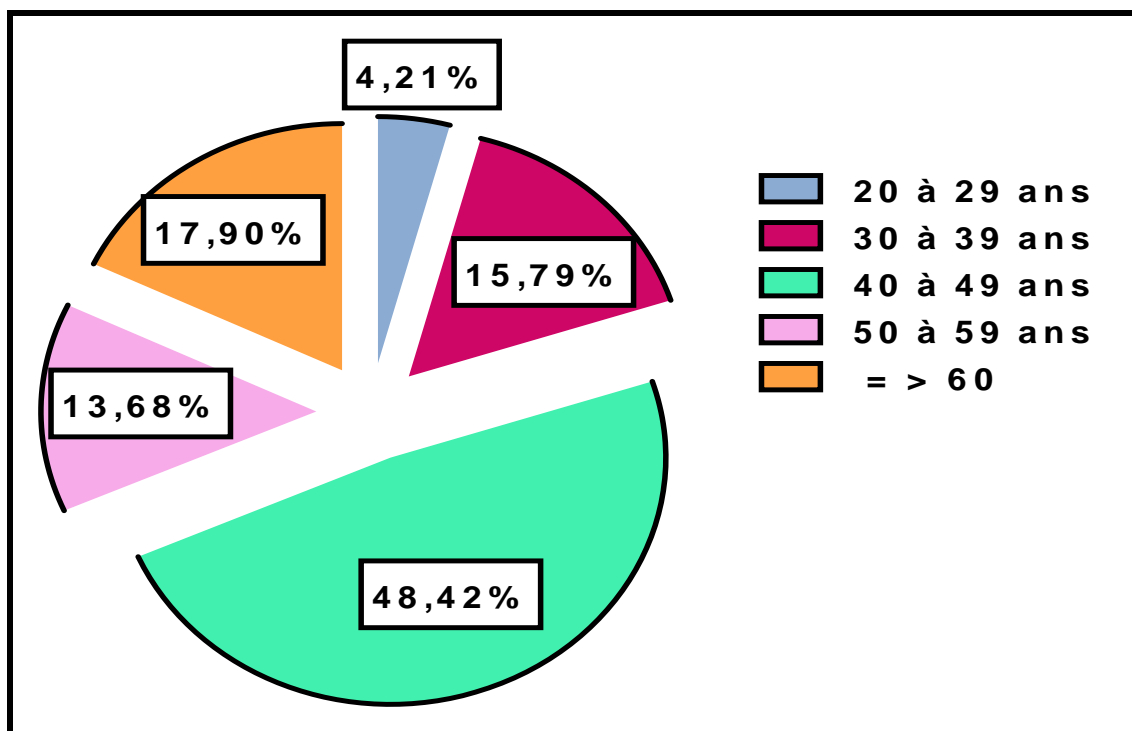


Figure 16. Utilisation des plantes médicinales selon l'âge.

III.1.4.3. Utilisation de plantes médicinales selon le niveau d'éducation

Parmi les informateurs qui ont été interrogés dans cette étude, (67,37%) étaient analphabètes, suivis du niveau d'éducation secondaire (20%), puis du primaire (10,53%). Alors que les universitaires utilisaient moins de plantes médicinales avec un pourcentage de (2,10%) (Figure 17).

Nos résultats concordent avec la plupart des études ethnobotaniques précédentes révélant la dominance des informateurs analphabètes tels que les rapports de Boudjelal *et al.* (2013) ; Islam *et al.* (2014) ; Bouasla et Bouasla (2017) ; (Miara *et al.*, 2018) et Miara *et al.* (2019b).

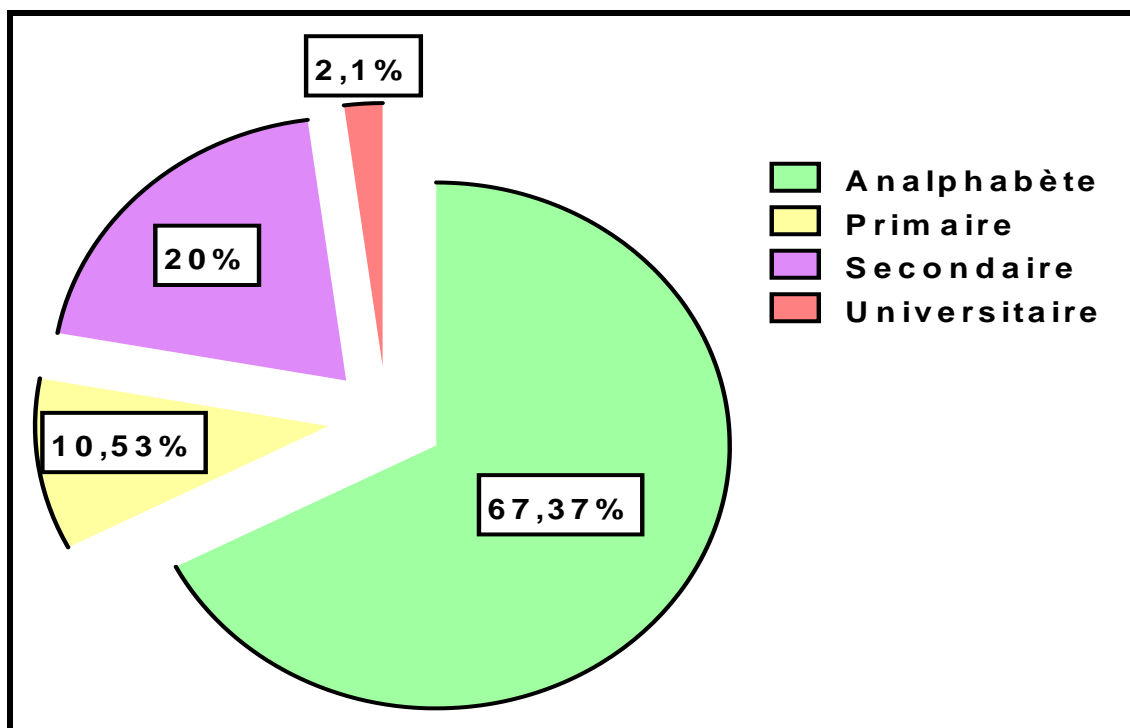


Figure 17. Utilisation des plantes médicinales selon le niveau d'éducation.

III.1.5. Utilisation des plantes médicinales dans la région d'El Kantara

Dans cette étude, 95% des plantes médicinales ont été utilisées pour traiter des maladies humaines. Il a été enregistré que 16 catégories de maladies ont été traitées par 57 espèces appartenant à 29 familles. Alors que 18,33% des plantes médicinales sont utilisées dans le domaine alimentaire avec 11 espèces appartenant à 5 familles. Seulement 13,33% des plantes étaient utilisées à la fois pour traiter les maladies humaines et dans le domaine alimentaire ; un total de 8 espèces appartenant à 4 familles sont utilisées par la population locale (Figure 18).

Le nombre d'espèces utilisées dans le domaine alimentaire est très faible par rapport à celui utilisé pour traiter les maladies humaines.

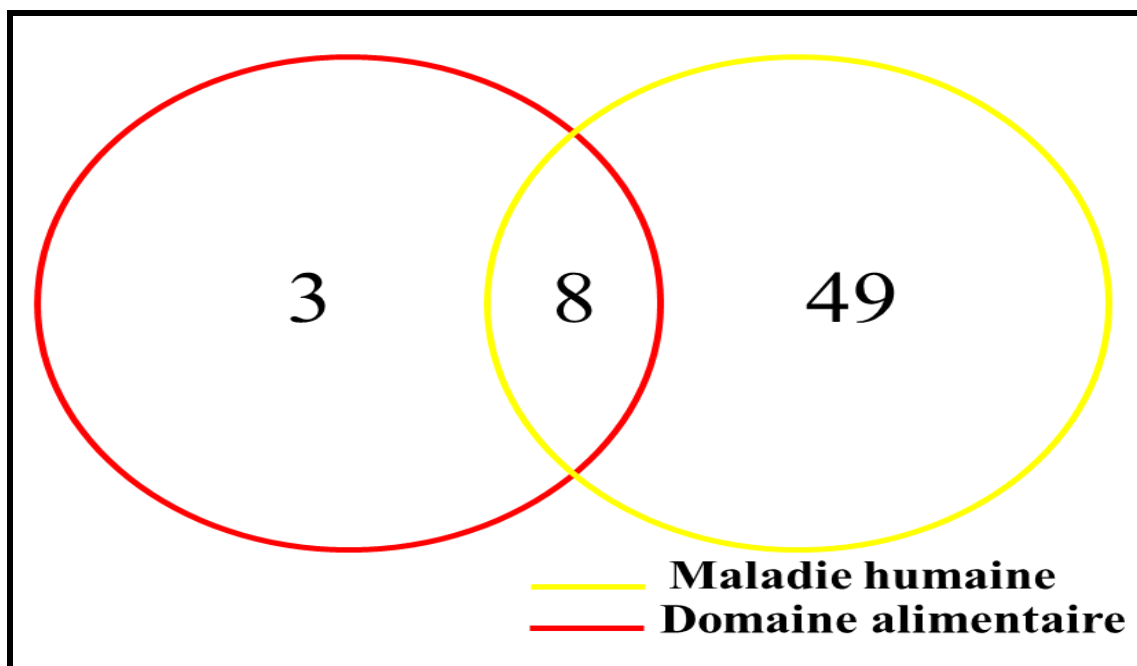


Figure 18. Diagramme de Venn montre l'utilisation des plantes médicinales dans la région d'El Kantara.

III.1.6. La valeur d'usage (VU)

Selon les VUs calculées (Tableau 9), *Artemisia herba-alba* Asso (1,26) présente la valeur la plus élevée ; elle a été reconnue par tous les informateurs qui ont documenté 120 rapports d'utilisation pour traiter les troubles du système gastro-intestinal, la fièvre, le diabète, les maladies respiratoires, les maux des dents et la circulation sanguine. *Rosmarinus officinalis* L. (1,14), *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. (0,75) *Juniperus phoenicea* L. (0,74) et *Marrubium alysson* L. (0,70) viennent ensuite.

Les VUs les plus faibles (0,03) ont été obtenus pour *Cleome Arabica* L., *Cynodon dactylon* (L.), *Eruca vesicaria* (L.), *Periploca laevigata* Aito, *Rumex simpliciflorus* Murb., et *Taraxacum laevigatum* (Willd.) DC.

Nos résultats coïncident avec les travaux d'Alzweiri *et al.* (2011) dont les VUs les plus élevés ont été rapportés pour *Artemisia herba-alba* Asso.

En Tunisie, *Artemisia herba-alba* est traditionnellement utilisée pour traiter le diabète, la bronchite, la diarrhée, l'hypertension et les névralgies (Mighri *et al.*, 2010). Au Maroc, elle est utilisée pour traiter le diabète, les maladies rénales et cardiaques (Jouad *et al.*, 2001). De plus, en Jordanie, l'armoise est utilisée pour traiter la fièvre, les problèmes menstruels et

nerveux (Alzweiri *et al.*, 2011). Elle est utilisée également comme antidiabétique et antispasmodique (Aburjai *et al.*, 2007).

Les lactones sesquiterpéniques sont d'importants produits naturels trouvés chez *Artemisia herba-alba*. Ils sont responsables de l'importance de cette plante en médecine et en pharmacie (Wright, 2001). Des études antérieures sur *Artemisia herba-alba* ont montré des activités antioxydantes, antibactériennes, antispasmodiques, anthelminthiques, antileishmaniales, neurologiques, hypoglycémiques, allélopathiques et pesticides (Mohamed *et al.*, 2010).

III.1.7. Facteur de consensus des informateurs (FCI)

Les plantes utilisées pour traiter les maladies ont été regroupées en 16 catégories, chacune étant divisée en plusieurs sous-catégories, sur la base des informations recueillies (Tableau 10).

La valeur FCI la plus élevée (0,94) a été notée pour les troubles du système gastro-intestinal et les maladies du système cardiovasculaire ; les troubles du système gastro-intestinal ont été traités avec la moitié (30) des espèces identifiées avec 451 rapports d'utilisation (*Rosmarinus officinalis* L. était la plus citée), tandis que les maladies du système cardiovasculaire n'ont été traitées que par 5 espèces avec 64 rapports d'utilisation (*Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. a été la plus citée).

Le rhume et le refroidissement ont enregistré la deuxième valeur de FCI (0,93). Les résultats des valeurs de FCI les plus élevées des troubles du système gastro-intestinal ont révélé un grand accord avec plusieurs études publiées précédemment comme l'enquête de Jamila et Mostafa (2014) ; Ullah *et al.* (2014) ; Benarba *et al.* (2015) ; Ouelbani *et al.* (2016) ; Eddouks *et al.* (2017); Miara *et al.* (2019a) et Vinagre *et al.* (2019). En outre, des enquêtes menées dans le désert ont également montré des valeurs de FCI les plus élevées des troubles du système gastro-intestinal comme le rapport de Yaseen *et al.* (2015) et Yaseen *et al.* (2019) dans le Sindh-Pakistan et celui d'Idm'hand *et al.* (2020) dans la région de Tarfaya au Maroc.

Miara *et al.* (2019a) expliquent le FCI élevé des troubles du système gastro-intestinal par une alimentation très riche en poivrons et en épices de la population locale de la région de Bordj Bou Arreridj (nord-est de l'Algérie). C'est le même cas de la population locale de la région d'El Kantara, qui sont très connue par leurs plats traditionnels trop poivré. Tandis que Chander *et al.* (2014) expliquent les valeurs les plus élevées de FCI des troubles du système

gastro-intestinal par les signes cliniques relatifs qui sont communs, facile à identifier, et qui sont probablement liées à un mode de vie non propre (Ouelbani *et al.*, 2016).

Tableau 10. Valeurs du facteur de consensus informatif (FCI) des maladies de catégorie.

Catégorie des maladies	Maladies signalées	Nru	Nt	FCI
Troubles du système gastro-intestinal	Indigestion, maux d'estomac, vermifuge, gaz intestinal, troubles digestifs, Inflammation des intestins, perte d'appétit, constipation, diarrhée, vomissements, inflammation de l'estomac, douleurs intestinales, douleurs gastriques, gonflement du ventre, brûlures d'estomac, douleurs abdominales, intoxication alimentaire	451	30	0,94
Affections cutanées	Plaies, cicatrisation, verrues, eczéma, leishmaniose, main gercée	157	16	0,90
Troubles des voies urinaires et des reins	Diurétique, troubles rénaux, infections des voies urinaires, calculs rénaux	63	6	0,92
Problèmes respiratoires	Toux, bronchite	105	11	0,90
Rhume & refroidissement	Grippe, rhume, refroidissement	43	4	0,93
Troubles du système musculo-squelettique	Douleurs musculaires, antirhumatismales, douleurs articulaires	149	14	0,91
Maladies du système cardiovasculaire	Circulation sanguine, hypotensive, antihypertension, maladies cardiaques	64	5	0,94
Problèmes oculaires et nasales	Saignement de nez, maladies oculaires	8	2	0,86
Morsure	Morsure de scorpion, morsure de serpent	21	4	0,85
Endocrinologie	Régule le taux de sucre dans le sang, antidiabétique, hypoglycémique, régule l'hormone, allaitement des femmes	80	8	0,91
Problèmes de bouche	Soigne la gingivite, aphte, maux des dents	29	6	0,82
Problèmes du système nerveux	Nervosité	26	3	0,92
Problèmes de tête	Maux de tête, vertiges, migraine	37	6	0,86
Problèmes gynécologiques	Règle le cycle menstruel, les douleurs menstruelles, et la stérilité féminine	55	7	0,80
Fièvre	Fièvre	47	6	0,89
Autre	Faiblesse, poux	6	2	0,80

III.1.8. Le niveau de fidélité (NF)

Une liste des plantes les plus citées avec des valeurs de NF (%) est présentée dans le tableau 11. La valeur de NF la plus importante (100%) a été notée uniquement pour *Paronychia argentea* Lam. pour le traitement des troubles rénaux.

Paronychia argentea Lam. est traditionnellement connue pour sa capacité à éliminer les calculs rénaux (Yesilada *et al.*, 1993; Abu-irmaileh et Afifi, 2003). Miara *et al.* (2019a) ont signalé la plus grande valeur de NF (21,05%) de *Hordeum vulgare* L. pour traiter la même catégorie de maladies (troubles rénaux) dans le Nord-Est de l'Algérie.

Les valeurs de NF des plantes les plus utilisées pour traiter les troubles du système gastro-intestinal ; *Rosmarinus officinalis* L. (94,66%) et *Juniperus phoenicea* L. (91,37%) viennent ensuite. La même catégorie de maladie a été signalée comme étant traitée par *Pinus sylvestris* L. (100%) et *Rhamnus alaternus* L. (100%) dans une autre enquête réalisée dans l'Ouest de l'Algérie (Benarba *et al.*, 2015).

Teucrium polium L. (84%) et *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. (79,24%) étaient les espèces les plus préférées utilisées pour le traitement des affections cutanées et des maladies cardiovasculaires respectivement.

Miara *et al.* (2019a) ont signalé une plante du genre *Thymus* : *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* pour traiter les maladies cardiovasculaires avec un pourcentage de 57%. Bien qu'il a été enregistré dans le Nord-Est de l'Algérie qu'*Aloe sp.* L. ayant un FL de (96,67%) utilisé pour traiter les affections cutanées (Ouelbani *et al.*, 2016).

Tableau 11 : Niveau de fidélité (FL) des dix plantes médicinales les plus citées.

Plantes médicinales	Catégorie des maladies	Np	N	FL (%)
<i>Paronychia argentea</i> Lam.	Troubles des voies urinaires et des reins	40	40	100
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Troubles du système gastro-intestinal	71	75	94,66
<i>Juniperus phoenicea</i> L.	Troubles du système gastro-intestinal	53	58	91,37
<i>Teucrium polium</i> L.	Affections cutanées	42	50	84,00
<i>Thymus algeriensis</i> Boiss. & Reut.	Troubles du système gastro-intestinal	42	53	79,24
<i>Artemisia herba alba</i> Asso	Troubles du système gastro-intestinal	56	95	58,94
<i>Marrubium Alysson</i> L.	Problèmes respiratoires	26	56	46,42
<i>Mentha pulegium</i> L.	Rhume & refroidissement	24	54	44,44
<i>Chrysanthemum macrocarpum</i> (Sch.Bip.) Coss. & Kralik ex Batt.	Problèmes du système nerveux	12	46	26,08
<i>Ruta Chalepensis</i> L.	Troubles du système musculo-squelettique	11	43	25,58

III.1.9. Nouveaux rapports et nouvelles utilisations

Nos résultats de l'enquête ethnobotanique dans la région d'El Kantara ont été comparés avec d'autres enquêtes ethnobotaniques en Algérie et dans les autres pays (Bellakhdar *et al.*, 1991 ; Yesilada *et al.*, 1993 ; Bonet *et al.*, 1999; Jouad *et al.*, 2001; Merzouki *et al.*, 2000; Abu-irmaileh et Afifi, 2003; Gürbüz *et al.*, 2003; Ould El Hadj *et al.*, 2003; Sosa *et al.*, 2005; Pieroni et Quave, 2005; Jäger *et al.*, 2006; Aburjai *et al.*, 2007; Karousou *et al.*, 2007; Gonz´alez-Tejero *et al.*, 2008; Marc *et al.*, 2008; Chograni *et al.*, 2010; Al-Mahrezi *et al.*, 2011; Alzweiri *et al.*, 2011; Meddour *et al.*, 2011; Polat et Satil, 2012; Rebbas *et al.*, 2012; Ali *et al.*, 2013; Boudjelal *et al.*, 2013; Boutaghane *et al.*, 2013; Ladhari *et al.*, 2013; Murad *et al.*, 2013; Ahmad *et al.*, 2014; El Hafian *et al.*, 2014; Bibi *et al.*, 2014 ; Jamila et Mostafa,

2014; Qasim *et al.*, 2014; Ullah *et al.*, 2014; Benarba *et al.*, 2015; Francis Xavier *et al.*, 2015; Güler *et al.*, 2015; Benarba, 2016; Lim, 2016; Ouelbani *et al.*, 2016; Agiel et Mericli, 2017; Barkaoui *et al.*, 2017; Bouasla et Bouasla, 2017; Cussy-Poma *et al.*, 2017; Najjaa *et al.*, 2017; Miara *et al.*, 2018 ; Naila et Ibrar, 2018; Hamza *et al.*, 2019; Miara *et al.*, 2019a ; Miara *et al.*, 2019b ; Robertovna *et al.*, 2019; Vinagre *et al.*, 2019; Idm'hand *et al.*, 2020) pour identifier de nouvelles utilisations thérapeutiques des plantes médicinales.

Les résultats ont documenté 43 nouvelles utilisations thérapeutiques de 28 espèces (49,12%) qui n'avaient pas été mentionnées précédemment dans la littérature ethnobotanique (Tableau 12) ; on peut citer quelques espèces ayant des hautes VU :

- *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. (0,75) est utilisé pour traiter les maladies cardiaques, les intoxications alimentaires, les infections des plaies, alors il était rapporté comme antiseptique, antispasmodique, antifongique, astringent, expectorant (Najjaa *et al.*, 2017).
- *Juniperus phoenicea* L. (0,74) est utilisé pour traiter les maux de tête. Miara *et al.* (2019a) et Najjaa *et al.* (2017) ont déjà signalés l'utilisation de la plante comme antiparasitaires, antiseptiques et pour traiter les plaies, la bronchite, l'arthrite.
- *Marrubium alysson* L. (0,7) est utilisé pour traiter les maux de tête et l'acné, cependant, il est utilisé comme laxatif, analgésique pour les douleurs articulaires, anti-rhumatismale, antidiabétique, et pour traiter la toux, les troubles digestifs et biliaires selon Najjaa *et al.* (2017) et Agiel et Mericli (2017).

De plus, *Rumex simpliciflorus* Murb. a été documentée pour la première fois dans cette étude pour traiter l'indigestion.

Par conséquent, les plantes médicinales présentent de nouvelles utilisations thérapeutiques, sont une source importante pour les études scientifiques, pour traiter certaines maladies et pour montrer clairement l'effet de la plante sur les maladies.

Tableau 12 : Utilisations non documentées des plantes médicinales dans la région d'El Kantara.

Plantes médicinales	Utilisation non documentée
<i>Artemisia campestris</i> L.	Morsures de serpent et scorpions, antipyrétique
<i>Astragalus armatus</i> Willd.	Maux d'estomac, gaz intestinaux
<i>Atriplex halimus</i> L.	Inflammation intestinale
<i>Ballota nigra</i> L.	Saignement de nez
<i>Calendula arvensis</i> M.Bieb.	Cicatrisation des plaies, brûlures
<i>Chrysanthemum macrocarpum</i> (Sch.Bip.) Coss. & Kralik ex Batt.	Nervosité, douleurs menstruelles, antipyrétique, antidiabétique
<i>Echinops spinosus</i> L.	Antirhumatismale, stérilité féminine
<i>Eruca sativa</i> Mill.	Perte d'appétit
<i>Genista microcephala</i> Coss. & Durieu	Diurétique
<i>Haloxylon stocksii</i> (Boiss.) Benth. & Hook. f.	Morsure de scorpion, affections cutanées, plaies, scabicide
<i>Juniperus phoenicea</i> L.	Maux de tête
<i>Launaea nudicaulis</i> (L.) Hook.f.	Vomissement
<i>Malva sylvestris</i> L.	Anti-rhumatismale
<i>Marrubium alysson</i> L.	Maux de tête, acné cutanée
<i>Onopordum acanthium</i> L.	Anti-rhumatismale, menstruation
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.	Faiblesse, maladie de la peau
<i>Oxalis pes-caprae</i> L.	Problèmes de la bouche (aphtes)
<i>Pallenis spinosa</i> (L.) Cass.	Calculs rénaux
<i>Pergularia tomentosa</i> L.	Maux de dents
<i>Reseda lutea</i> L.	Intoxication alimentaire
<i>Retama raetam</i> (Forssk.) Webb.	Stérilité féminine
<i>Rhus tripartitum</i> (Ucria) Grande	Problèmes du système respiratoire
<i>Rumex simpliciflorus</i> Murb.	Indigestion
<i>Scorzonera undulata</i> Vahl	Antidiarrhéique
<i>Tamarix gallica</i> L.	Anti-rhumatismale, poux
<i>Taraxacum laevigatum</i> (Willd.) DC.	Antitussif
<i>Thymus algeriensis</i> Boiss. & Reut.	Maladies cardiaque, intoxication alimentaire
<i>Ziziphus lotus</i> Lam.	Faiblesse cardiaque, allaitement

III.1.10. Plantes médicinales utilisées dans le domaine alimentaire

Au total, 11 espèces appartenant à cinq familles ont été enregistrées comme étant utilisées dans le domaine alimentaire.

Quatre catégories de l'utilisation alimentaire des plantes ont été rapportées : arôme (saveur) avec six espèces, fabrication de fromage avec trois espèces, enfin conservation du lait et extraction du beurre avec une espèce pour chaque catégorie (Tableau 13).

Tableau 13 : Utilisation de plantes sauvages dans le domaine alimentaire.

Catégorie	Familles Nom scientifique N° spécimen	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Mode de preparation	Utilisations recommandées	Nombre de citation
Arôme	<i>Asteraceae</i>		Partie aérienne	Tremper une petite quantité de la plante dans une tasse de café pour donner une saveur agréable	Aromatisé le café	47
	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso. AST-015-4-2017	شبح Chih				
	<i>Cupressaceae</i>		Partie aérienne	Tremper une petite quantité de la plante dans le babeurre présent dans le chekoua pour donner un goût et une saveur agréables	Aromatisé le babeurre	27
	<i>Juniperus phoenicea</i> L. CUP-034-4-2019	عرعار Araar				
<i>Lamiaceae</i>			Partie aérienne	Dans une tasse de thé, faites tremper un peu de lavande pour donner un goût et une saveur particuliers	Aromatisé le thé	6
	<i>Lavandula multifida</i> L. LAM-036-4-2018	تاي الجبل، زريقة Tay djebal, zeriga				
<i>Lamiaceae</i>			Partie aérienne	Tremper une petite quantité de la plante dans le babeurre présent dans le chekoua pour donner un goût et une saveur agréables	Aromatisé le babeurre	19
	<i>Mentha pulegium</i> L. LAM-039-4-2019	فليو Flio				
<i>Lamiaceae</i>			Feuille	Tremper une petite quantité de la partie aérienne du romarin dans le babeurre présent dans le chekoua pour donner un goût et un arôme agréables	Aromatisé le babeurre	19
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L. LAM-056-4-2019	اكليل الجبل Iklil jabal				

Tableau 13 : Utilisation de plantes sauvages dans le domaine alimentaire (suite).

Catégorie	Familles	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Mode de preparation	Utilisations recommandées	Nombre de citation
Arôme	<i>Lamiaceae</i> <i>Thymus algeriensis</i> Boss. et Reut. LAM-068-4-2018	مزوشن Mezouchen	Partie aérienne	Tremper la partie aérienne de la plante dans le babeurre présent dans le chekoua, les feuilles et les fleurs sont utilisées pour parfumer le babeurre alors que les tiges et les branches servent comme un tamis sur l' orifice du chekoua. Lorsque le babeurre est distribué dans les tasses, les petites quantités du beurre présentes dans le chekoua restent piégées par le tamis des tiges et des branches de la plante, le babeurre récupéré dans la tasse est pur	Aromatisé le babeurre	13
Fabrication du fromage	<i>Asteraceae</i> <i>Cynara cardunculus</i> L. AST-071-6-2018	خرشف بري Khorchof bari	Fleur mauve	Mettre une petite quantité de la fleur mauve dans un chach (ressemble à une compresse de gaz) puis trempez et retirez dans un récipient contenant du lait de brebis ou du lait de chèvre tiède (juste après la traite) plusieurs fois jusqu'à ce que le lait commence à coaguler	Fabrication du fromage avec du lait des ovins et du lait des caprins	34
	<i>Asteraceae</i> <i>Onopordum acanthium</i> L. AST-042-4-2018	شوك الجمل Chok djemal	Fleur mauve	La même méthode décrite avec <i>Cynara cardunculus</i> L.	Fabrication du fromage avec du lait des ovins et du lait des caprins	3

Tableau 13 : Utilisation de plantes sauvages dans le domaine alimentaire (suite).

Catégorie	Familles Nom scientifique N° spécimen	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Mode de préparation	Utilisations recommandées	Nombre de citation
Fabrication du fromage	<i>Asteraceae</i> <i>Scolymus hispanicus</i> L. AST-072-6-2019	قرنية Garnina	Fleur jaune	La même méthode décrite avec <i>Cynara cardunculus</i> L. (fleur jaune)	Fabrication du fromage avec du lait des ovins et du lait des caprins	7
Extraction du beurre	<i>Polygonaceae</i> <i>Polygonum aviculare</i> L. POL-073-6-2019	رجل الجاج Rejal Djadj	Partie aérienne	Verser le lait cru de vache dans un récipient puis ajoutez la partie aérienne de la plante, laissez reposer toute la nuit jusqu'à ce que le lait devienne un lait caillé puis déplacez le caillé (retirer la plante) dans le chekoua, et commencez à secouer le chekoua d'avant en arrière jusqu'à ce qu'un une grande quantité de beurre est obtenue (la quantité de beurre obtenue est beaucoup plus grande que la quantité habituellement extraite sans l'ajout de la plante)	Extraire du beurre du lait cru de vache	7
Conservation du lait	<i>Umbelliferae</i> <i>Thapsia garganica</i> L. UMB-066-4-2017	دريس، بونافع Daryas Bounafaa	Racine	La pelure des racines est enlevée puis récupérée le centre de la racine. Mettez-en un petit morceau dans le chekoua qui contient le lait cru, le lait reste conservé plusieurs jours	Conservation du lait cru	3

III.1.10.1. Arôme et flaveur

Artemisia herba-alba Asso (47 citations), *Juniperus phoenicea* L. (27 citations), *Lavandula multifida* L. (6 citations), *Mentha pulegium* L. (19 citations), *Rosmarinus officinalis* L. (19 citations) et *Thymus algeriensis* Boss. & Reut. (13 citations) sont les plantes aromatiques utilisées traditionnellement pour aromatiser le café, le babeurre et le thé.

Les plantes aromatiques contiennent des huiles essentielles et des arômes pouvant être exploités à des fins industrielles (aliments, parfums,...) (Ennajar *et al.*, 2010).

En Algérie, Bezza *et al.* (2010) ont indiqué qu'*Artemisia herba-alba* est utilisé pour aromatiser le thé et le café. En Italie, Guarrera *et al.* (2005) ont montré que *Rosmarinus officinalis* L. est utilisé pour aromatiser le fromage préparé à partir de l'estomac de mouton. De plus, Chu et Kemper (2001) ont montré que le genre *Lavandula* est couramment utilisé pour aromatiser le thé et les aliments.

Les espèces du *Mentha* sont d'une grande importance et sont fréquemment utilisées pour apporter des saveurs aux aliments (Ouakouak *et al.*, 2015). Teixeira *et al.* (2012) ont révélés que les extraits et les huiles essentielles de *Mentha pulegium* ont un énorme potentiel comme alternatives des conservateurs synthétiques dans l'industrie alimentaire. Alors que Ennajar *et al.* (2011) ont montré que les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* peuvent être utilisées comme potentiel substitut aux antioxydants synthétiques dans des domaines spécifiques de la conservation des aliments où leur utilisation ne contraste pas avec leur arôme.

Les espèces de *Thymus* sont largement utilisées et caractérisées par leur goût et leur saveur agréables. Les huiles essentielles de nombreuses espèces de *Thymus* sont largement utilisées pour aromatiser et conserver plusieurs produits alimentaires (Ouariachi *et al.*, 2014). Avec ses capacités antifongiques et antiradicalaires élevées, l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* pourrait être recommandée comme additif antimicrobien naturel pour prolonger la durée de conservation du fromage à pâte molle (Bukvicki *et al.*, 2018).

III.1.10.2. Fabrication du fromage

Cynara cardunculus L. (34 citations), *Onopordum acanthium* L. (3 citations) et *Scolymus hispanicus* L. (7 citations) sont traditionnellement utilisés dans la fabrication du fromage par coagulation du lait.

Les études de coagulation sont importantes pour la production et la maturation des fromages. Galán *et al.* (2012) ont montré que l'enzyme cyprosinase présente dans le coagulant

végétal de *Cynara cardunculus* présentait des activités protéolytiques. Cette enzyme protéolytique pourrait être utilisée comme une variété du système protéinase (Fernández-Salguero *et al.*, 2002).

Brutti *et al.* (2012) ont identifié une enzyme onopordosine à partir d'*Onopordum acanthium* qui présentait une activité protéolytique et de coagulation.

Les protéinases présentes dans les fleurs des plantes médicinales peuvent être exploitées dans les industries agro-alimentaires par exemple dans l'industrie laitière, les enzymes sont essentielles à la production de fromage et jouent un rôle important dans l'emballage alimentaire (Marx, 1989).

Dans la région d'El Kantara, la population locale préférait la fabrication du fromage avec *Cynara cardunculus* L. et *Scolymus hispanicus* L., tandis que le fromage préparé par *Onopordum acanthium* L. avait un goût amer.

III.1.10.3. Conservation du lait et extraction du beurre

Par leurs activités antimicrobiennes (Casiglia *et al.*, 2016) et leurs activités antioxydantes (Athmouni *et al.*, 2015), *Thapsia garganica* L. (7 citations) peut améliorer la durée de conservation du lait. Cependant cette plante ne peut pas être utilisée comme agent de bio-conservation car elle est toxique.

L'utilisation traditionnelle de *Polygonum aviculare* L. (3 citations) dans l'extraction du beurre dans cette étude soit utile aux chercheurs pour comprendre le mécanisme de l'extraction excessive du beurre.

Par conséquent, la demande accrue des consommateurs à éliminer ou au moins de minimiser les produits synthétiques a fait penser aux additifs naturels. Les plantes médicinales contiennent des substances naturelles efficaces telles que les huiles essentielles, les polyphénols et les flavonoïdes qui possèdent de fortes activités antiradicalaires et antimicrobiennes et peuvent être utilisées comme additif alimentaire naturel pour protéger les aliments de la peroxydation lipidique et assurer la sécurité microbiologique des aliments.

Par leur richesse en arômes et en enzymes, les plantes médicinales occupent une place importante dans les industries agro-alimentaires. De nombreux auteurs ont tenté d'exploiter des plantes médicinales pour la bio-conservation des aliments tels que Lee *et al.* (2009) ; Hać-Szymanczuk *et al.* (2017) et Jayari *et al.* (2018).

À cette fin, un inventaire des plantes médicinales traditionnellement utilisées dans le domaine alimentaire est nécessaire pour accumuler les connaissances traditionnelles en traduisant les données traditionnelles en concepts scientifiques et en les intégrant dans les secteurs de l'industrialisation moderne.

III.2. Etude de la résistance aux antibiotiques

III.2.1. Caractérisation de l'identification des souches bactériennes

Pendant 5 mois (du Septembre 2019 jusqu'au Janvier 2020) et sur un total de 426 échantillons (243 du babeurre et 183 du lait cru) non pasteurisé collectés auprès des laitières situées dans 23 communes à la wilaya de Batna, 19 (4,46%) isolats ont été obtenus sur gélose MacConkey supplémentée du ceftazidime et soumis à l'identification moléculaire.

III.2.1.1. Amplification du gène codant l'ARNr 16S

L'identification des isolats a été effectuée en utilisant des amorces universelles (63F et 1492R). Après amplification du gène codant pour l'ARNr 16S des isolats par PCR, le profil d'électrophorèse présente des bandes d'environ 1500 pb correspondent aux isolats appropriés (Figure 19). Les séquences du gène ARNr 16S identifiées ont été soumises à GenBank avec les numéros d'accès MW480205–MW480217 et MW577698–MW577703 (Annexe 3).

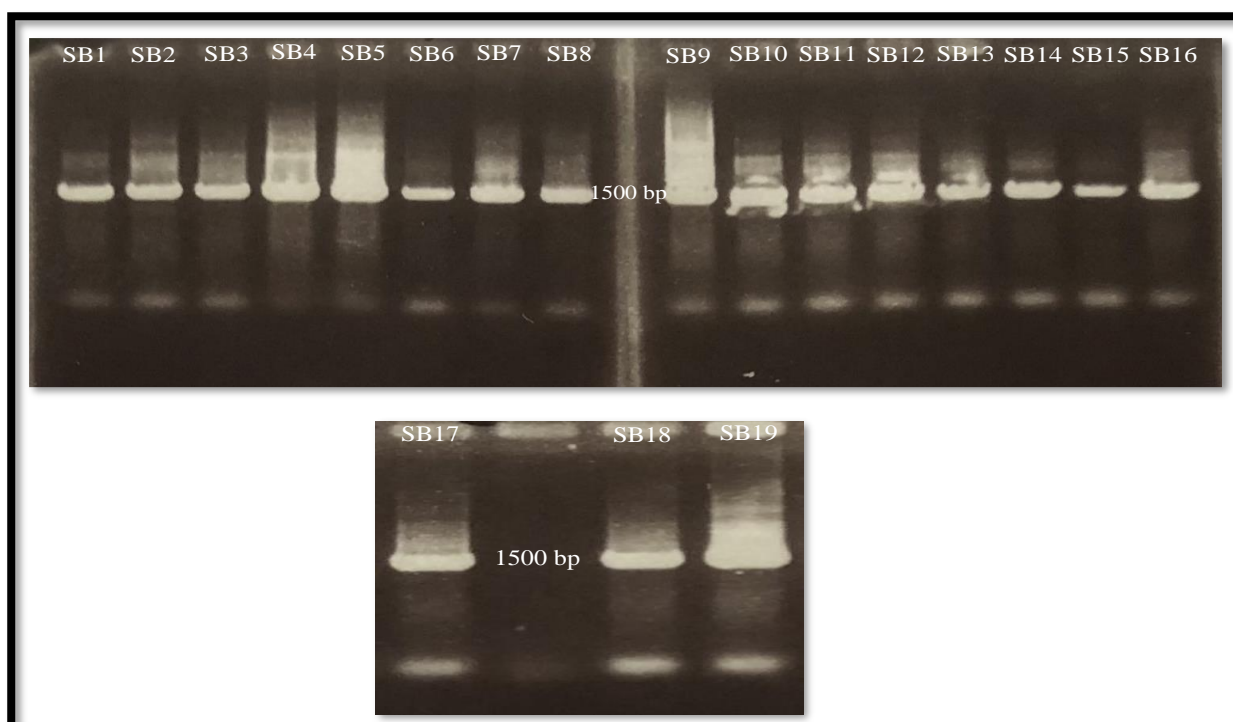


Figure 19. Electrophorèse sur gel d'agarose de l'amplification par PCR du gène *codant* l'ARNr 16S des isolats.

III.2.1.2. Alignement des séquences de l'ARNr 16S et identification

Les séquences codant pour l'ARNr 16S des isolats ont été alignées ce qui permet de positionner chaque isolat et sa corrélation génétique avec les autres souches les plus proches, par référence à des données des séquences de l'ARNr 16S bactériennes disponibles dans la banque de données NCBI. Les résultats des souches bactériennes identifiées sont résumés comme suit :

D'après l'alignement, les séquences de l'ARNr 16S des isolats SB1, SB7, SB8 et SB9 ont montré une similarité de 99% avec *Hafnia paralvei* (strain FDAARGOS_158 chromosome, génome complet, ID : CP014031.2), alors que la séquence de l'isolat SB2 a montré une homologie de 99% avec *Enterobacter xiangfangensis* (strain S15 16S ribosomal RNA gene, séquence partielle, ID : MH384426.1). De plus, la séquence de l'isolat SB3 a présenté une similitude de 100% avec *Escherichia coli* (strain XJ-NF9 16S ribosomal RNA gene, séquence partielle, ID : JQ404467.1).

En outre, la souche la plus proche pour l'isolat SB4 est *Klebsiella pneumoniae* (strain KpC5 chromosome, génome complet, ID : CP065833.1) avec un pourcentage d'homologie de 99%. Tandis que, l'isolat SB5 a montré une similitude de 99% avec *Klebsiella pneumoniae* (strain F16KP0014 chromosome, génome complet, ID : CP052192.1), alors que l'isolat SB6 est rapproché à *Klebsiella pneumoniae* (strain D16KP0042 chromosome, génome complet, ID : CP052372.1) avec un pourcentage de 99%.

De plus, l'isolat SB10 ressemble à *Klebsiella oxytoca* (strain AA24 16S ribosomal RNA gene, séquence partielle, ID : MG571767.1) avec un pourcentage de 99% de similarité. Alors que la séquence de l'isolat SB11 a enregistré un pourcentage d'homologie de 99% avec *Citrobacter freundii* (strain E51 chromosome, génome complet, ID : CP042534.1).

Les séquences des isolats SB12 et SB19 ont révélé une similarité de 99% avec *Klebsiella pneumoniae* (strain 2482 16S ribosomal RNA gene, séquence partielle, ID : MT604894.1). En outre, les isolats SB13 et SB15 sont très proche à *Escherichia coli* (strain UFV 442 16S ribosomal RNA gene, séquence partielle, ID : MN557055.1) et à *Escherichia coli* (strain N15-1 16S ribosomal RNA gene, séquence partielle, ID : MT192520.1) avec un pourcentage de similarité de 100% et 99% respectivement. Tandis que la séquence de l'isolat SB14 a présenté un pourcentage d'homologie de 100% avec *Klebsiella pneumoniae* (strain Ocean Ranger chromosome, génome complet, ID : CP065447.1).

Les séquences des isolats SB16 et SB17 ont révélé une homologie de 99% avec *Escherichia coli* (strain M3, génome complet, ID: CP010183.1) et *Escherichia coli* (strain

PAK/SA8 16S ribosomal RNA gene, séquence partielle, ID: MK778503.1) respectivement. Alors que la souche la plus proche pour l'isolat SB18 est *Klebsiella pneumoniae* (strain Beach Ranger chromosome, génome complet, ID : CP065453.1).

III.2.1.3. Construction de l'arbre phylogénétique

Afin de situer les isolats dans l'arbre phylogénétique avec des souches répertoriées dans la base de données, nous avons importé des séquences de l'ADNr 16S des souches de la base de données, dont le pourcentage de similitude avec nos souches est élevé. Ces séquences ont été éditées dans le logiciel MEGA-X, les séquences obtenues ont été alignées par ClustalW, ensuite analysées par la méthode Neighbor-Joining avec le modèle de substitution de Kimura « Kimura's two-parameter » et les valeurs de Bootstrap sont exprimées à 1000 répétitions (Figure 20).

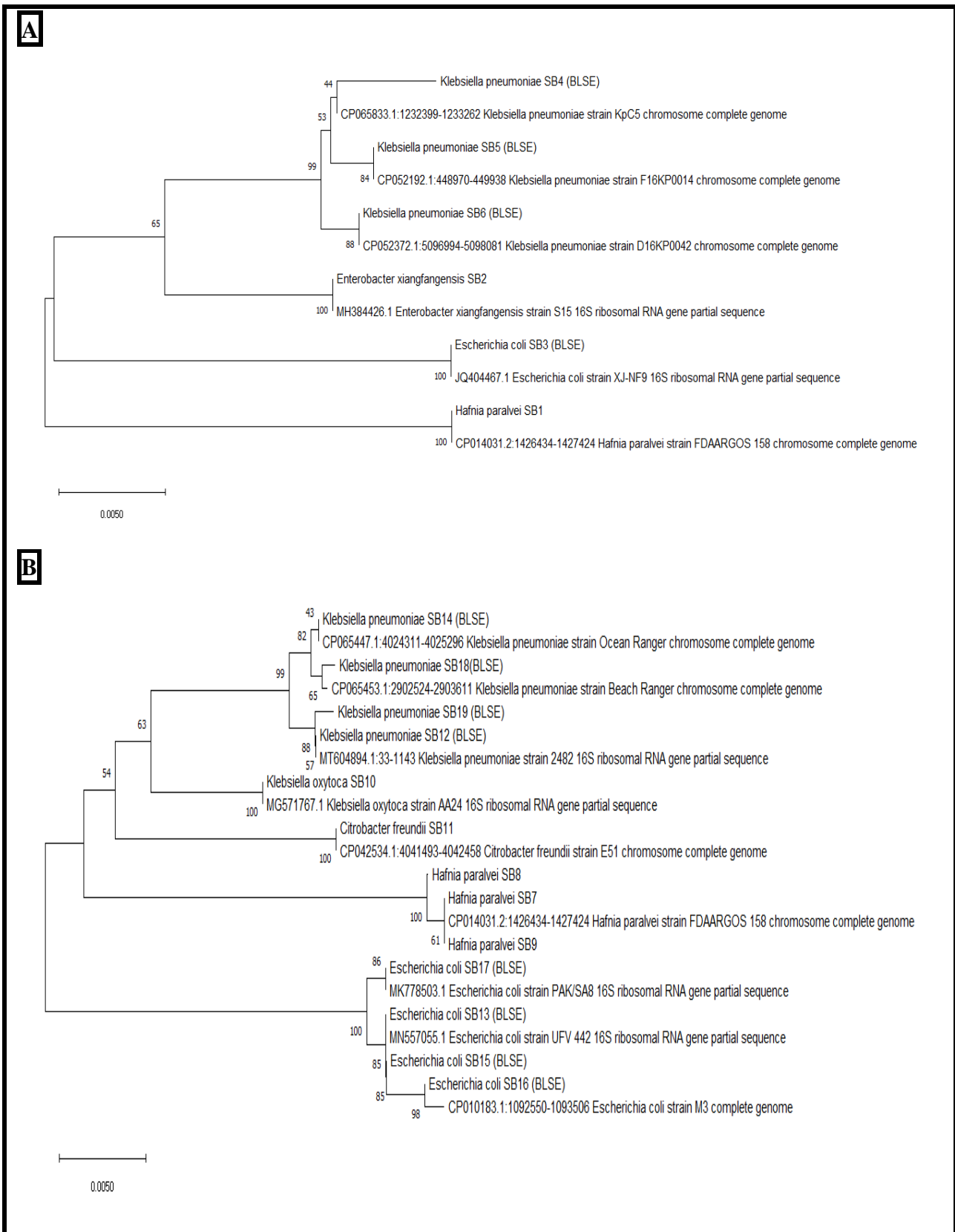


Figure 20. Analyse phylogénétique des séquences du gène ARNr 16S des isolats par MEGA-X. L'arbre phylogénétique construit était calculé par la méthode du Neighbor-Joining à l'aide du modèle de substitution de paramètres Kimura-2 en utilisant la valeur de bootstrap de 1000 répétitions. A : souches du lait cru. B : souches du babeurre.

III.2.1.3. Répartition des isolats selon la nature des échantillons

Les souches bactériennes identifiées sont réparties comme suit (Tableau 14) :

Tableau 14. Liste des souches bactériennes isolées à partir du lait cru et du babeurre.

Nature d'échantillon	Souches bactériennes
Lait cru	<i>Hafnia paralvei</i> SB1, <i>Enterobacter xiangfangensis</i> SB2, <i>Escherichia coli</i> SB3, <i>Klebsiella pneumoniae</i> SB4, <i>Klebsiella pneumoniae</i> SB5, <i>Klebsiella pneumoniae</i> SB6.
Babeurre	<i>Hafnia paralvei</i> SB7, <i>Hafnia paralvei</i> SB8, <i>Hafnia paralvei</i> SB9, <i>Klebsiella oxytoca</i> SB10, <i>Citrobacter freundii</i> SB11, <i>Klebsiella pneumoniae</i> SB12, <i>Escherichia coli</i> SB13, <i>Klebsiella pneumoniae</i> SB14, <i>Escherichia coli</i> SB15, <i>Escherichia coli</i> SB16, <i>Escherichia coli</i> SB17, <i>Klebsiella pneumoniae</i> SB18, <i>Klebsiella pneumoniae</i> SB19.

➤ **Isolats du lait cru :** *Klebsiella pneumoniae* (50%, 3), *Hafnia paralvei* (16,67%, 1), *Escherichia coli* (16,67%, 1) et *Enterobacter xiangfangensis* (16,67%, 1) (Figure 21).

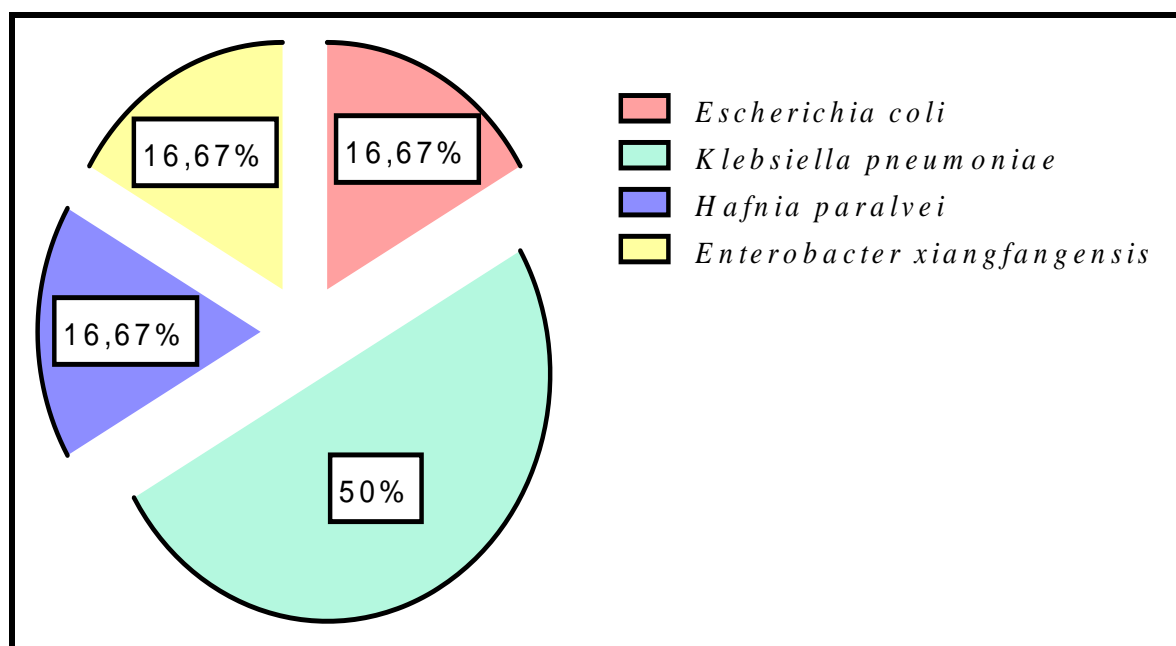


Figure 21. Répartition des *Enterobacteriaceae* résistantes à la ceftazidime isolées du lait cru.

➤ **Isolats du babeurre :** *Klebsiella pneumoniae* (30,77%, 4), *Escherichia coli* (30,77%, 4), *Hafnia paralvei* (23,08%, 3), *Klebsiella oxytoca* (7,69%, 1) et *Citrobacter freundii* (7,69%, 1) (Figure 22). On note la détection pour la première fois des souches bactériennes suivantes dans le babeurre ; *Hafnia paralvei* et *Citrobacter freundii*.

De plus, la détection des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE à partir du babeurre est rapportée pour la première fois dans ce travail.

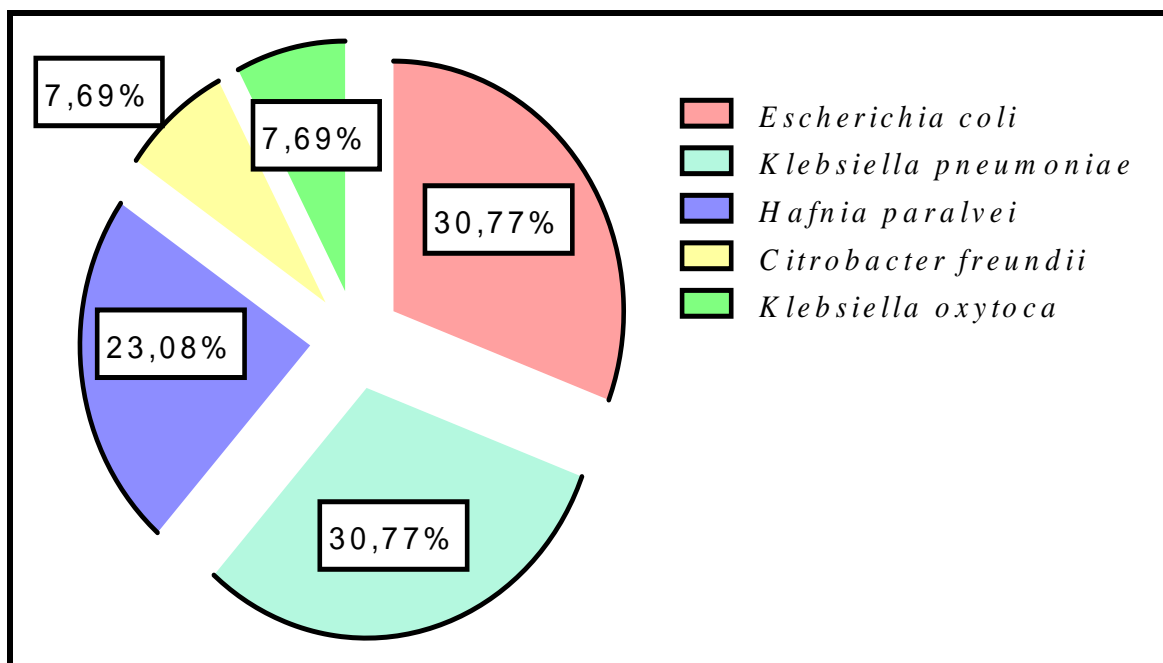


Figure 22. Répartition des *Enterobacteriaceae* résistantes à la ceftazidime isolées du Babeurre.

Plusieurs études sur les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE dans le secteur laitier, comme le lait en vrac et le fromage, ont montré leur intervention en tant que réservoir et source de telles souches dans la chaîne de production laitière (Odenthal *et al.*, 2016 ; Ombarak *et al.*, 2016).

Bien que les isolats producteurs de BLSE n'aient pas été fréquemment signalés dans les produits laitiers en Algérie, certains isolats producteurs de BLSE ont été signalés dans le lait cru (Yaici *et al.*, 2016; Tahar *et al.*, 2020). La fréquence des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE dans le lait cru des fermes laitières en Turquie rapportée par Tepeli et Zorba (2018) était de 0,73%, tandis que 3,33% des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE dans le lait en vrac ont été détectées en Colombie (Vásquez-Jaramillo *et al.*, 2017). De plus, Odenthal *et al.* (2016) ont signalé 9,5% des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE dans des réservoirs en vrac provenant des laiteries allemandes. Alors que Husan et Çadirci (2019) ont signalé que le fromage était contaminé par une grande diversité d'*Enterobacteriaceae* productrices de BLSE (22,7%) en Turquie.

La contamination par des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE du babeurre peut être inattendue car les bactéries lactiques ont révélé une nouvelle alternative pour le traitement et la prévention des bactéries pathogènes capables de développer une résistance aux antibiotiques

(Gutiérrez *et al.*, 2016). En effet, l'identification des bactéries pathogènes dans le babeurre indique une post contamination, cette contamination était associée à une mauvaise hygiène et peut être due aux travailleurs et à l'environnement. La contamination provient de l'eau du lavage, des mamelles des vaches, des équipements de traite, barattes, des récipients et de l'eau ajoutée pendant le barattage. Tous cela peuvent attribuer un niveau élevé de contamination du babeurre (Yilma *et al.*, 2006).

De plus, la contamination du lait cru et du babeurre par les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE peuvent survenir par contamination fécale ; *Escherichia coli* est un indicateur fiable de la contamination fécale et leur présence montre une possibilité de la contamination d'agents pathogènes entériques dans les produits laitiers crus (Kornaki et Johnson 2001). De plus, trois (3) laiteries ont été contaminées chacune par deux *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE différentes, ce qui indique une colonisation des producteurs de BLSE dans le babeurre et dans le lait cru.

La contamination bactérienne dans le secteur laitier représente non seulement la détérioration des produits, mais également peut provoquer plusieurs infections. Les *Enterobacteriaceae* les plus répandues dans cette étude ; *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* ont été enregistrés comme les principaux producteurs de BLSE parmi la famille des *Enterobacteriaceae* dans le secteur laitier (Sudarwanto *et al.*, 2015 ; Skockova *et al.*, 2015).

Klebsiella pneumoniae est un agent pathogène opportuniste qui a été associé à des maladies d'origine alimentaire (Hartantyo *et al.*, 2020), il provoque des infections humaines extra-intestinales telles que celle des voies urinaires, de la circulation sanguine (septicémie), des pneumonies, des abcès hépatiques pyogène (Davis et Price 2016 ; Martin *et al.*, 2016), et même des maladies gastro-intestinales (Qiao-ling *et al.*, 2019). De plus, la prédominance de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE dans le lait cru peut entraîner un risque majeur de transfert de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE à l'homme par la consommation du lait (Diab *et al.*, 2017).

De plus, *Escherichia coli* a été divisés en cinq principaux pathotypes d'*E. coli* diarrhéiques d'origine alimentaire : *E. coli* entéro-pathogène, *E. coli* produisant la toxine Shiga (*E. coli* entérohémorragique), *E. coli* entéro-invasif, *E. coli* entéro-agrégatif, et *E. coli* entérotoxigène causant des infections intestinales grave (Yan *et al.*, 2017). Alors que les infections des voies urinaires ont été signalées comme un problème d'infection causé par *Escherichia coli* uropathogène (Parajuli *et al.*, 2017).

III.2.2. Antibio-résistance des isolats

III.2.2.1. Profils de résistance aux antibiotiques des isolats du lait cru

Dans la présente étude, (66,67%, 4) des *Enterobacteriaceae* isolées à partir du lait cru étaient multirésistantes, ce qui signifie une résistance au moins à trois antibiotiques de classes différentes, il s'agit de toutes les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE ; *Escherichia coli* SB3, *Klebsiella pneumoniae* SB4, *Klebsiella pneumoniae* SB5 et *Klebsiella pneumoniae* SB6. Alors que *Hafnia paralvei* SB1 est résistante à deux classes différentes d'antibiotiques (16,66%) et qu'*Enterobacter xiangfangensis* SB2 (16,66%) est résistante à une seule classe d'antibiotiques.

Toutes les souches sont résistantes à l'amoxicilline, à l'ampicilline, au céfotaxime, à la ceftazidime, et au céfépime. Alors que les souches résistantes à l'aztréonam (66,66%, 4), à la tétracycline (66,66%, 4), à l'amoxicilline/clavulanique (66,66%, 4), au triméthoprime-sulfaméthoxazole (66,66%, 4) et à la céfoxitine (66,66%, 4) viennent ensuite. En outre, des niveaux inférieurs ont été détectés pour la gentamycine (16,66%, 1), et l'amikacine (16,66%, 1). Toutes les souches étaient sensibles à l'ertapénème, à l'imipénème, à la ciprofloxacine, au chloramphénicol et à l'acide nalidixique (Figure 23).

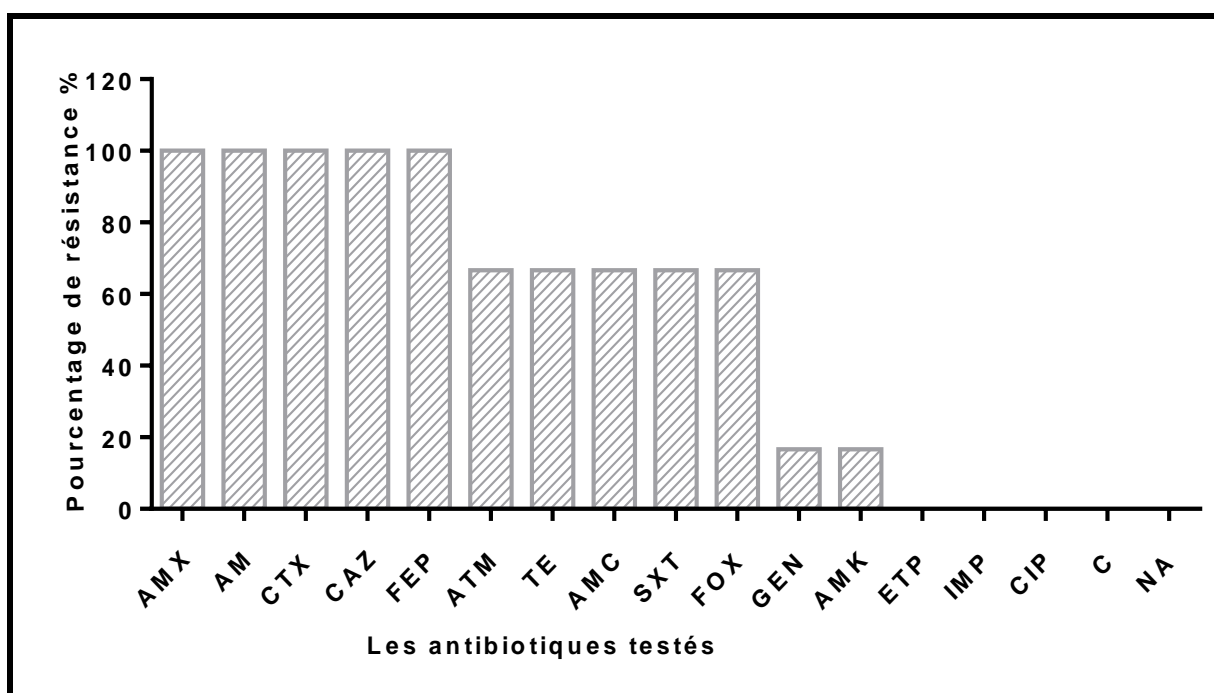


Figure 23. Fréquence de résistance aux antibiotiques des *Enterobacteriaceae* isolées à partir du lait cru.

III.2.2.2. Profils de résistance aux antibiotiques des isolats du babeurre

Dans l'ensemble, (61,53%, 8) des *Enterobacteriaceae* résistantes à la ceftazidime sont des multirésistantes. Tandis que (15,38%, 2) des isolats le sont à deux classes d'antibiotiques. Alors que (23,09%, 3) des isolats sont résistantes à une seule classe d'antibiotique.

Toutes les souches sont résistantes à l'amoxicilline, à l'ampicilline, au céfotaxime, à la ceftazidime, et au céfépime. Des taux de résistance élevés ont été observés pour l'aztréonam (57,14%, 8), la tétracycline (57,14%, 8), l'amoxicilline/clavulanique (38,46%, 5), le triméthoprime-sulfaméthoxazole (50%, 7), la céfoxitine (38,46%, 5), et la ciprofloxacine (21,42%, 3). En outre, des niveaux inférieurs ont été détectés pour la gentamycine (21,42%, 3), l'amikacine (21,42%, 3) et le chloramphénicol (14,28%, 2). Toutes les souches étaient sensibles à l'ertapénème, à l'imipénème et l'acide nalidixique (Figure 24).

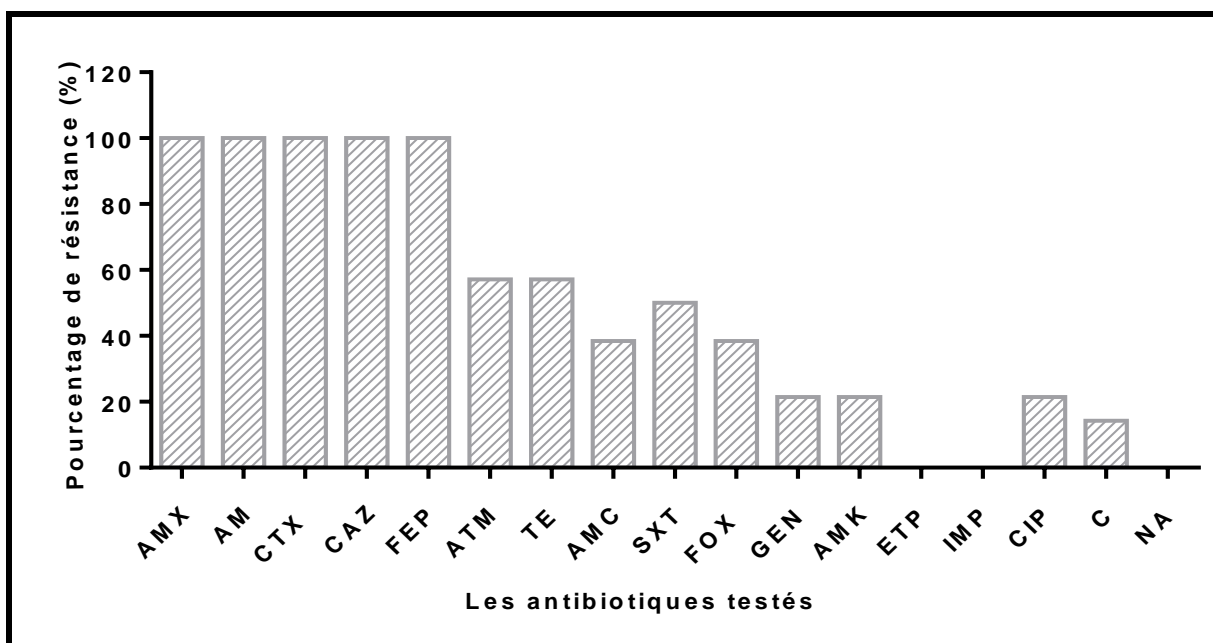


Figure 24. Fréquence de résistance aux antibiotiques des *Enterobacteriaceae* isolées à partir du babeurre.

Les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE sont fréquemment résistantes à d'autres classes d'agents antimicrobiens (Parussolo *et al.*, 2019; Hassen *et al.*, 2020). Dans une étude ultérieure développée par Eisenberger *et al.* (2018), *Escherichia coli* productrices de BLSE isolé à partir du lait de vache a montré une multi-résistance à la tétracycline et au triméthoprime-sulfaméthoxazole. Alors que la résistance à la ciprofloxacine, à l'acide nalidixique, à la tétracycline, à l'aminoside et aux sulfamides a été révélée chez *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE isolée à partir du lait de buffle (Bandyopadhyay *et al.*, 2018).

En outre, une résistance croisée des *Enterobacteriaceae* aux β -lactamines associées à la tétracycline et le triméthoprim-sulfaméthoxazole a été détectée à partir des différents types de fromages portugais (Amador *et al.*, 2009). La résistance croisée observée dans les isolats à différents antibiotiques suggère que la résistance aux antibiotiques est probablement apparue en raison de l'imperméabilité ou de l'efflux de plusieurs médicaments ou d'une combinaison de plusieurs mécanismes de résistance non liés (Japoni *et al.*, 2006).

La multi-résistance aux médicaments est associée aux producteurs de BLSE parce que les déterminants de la résistance à la tétracycline, à l'aminoside, au triméthoprim et à la céphalosporine sont souvent situés sur le même plasmide (Jacoby et Sutton, 1991). De plus, les β -lactamines, la tétracycline, les sulfamides, les quinolones et le chloramphénicol sont les antibiotiques les plus fréquemment utilisés chez les bovins et leurs résidus dans les produits laitiers auraient un impact négatif sur la santé humaine en augmentant le développement des bactéries résistantes (Chiesa *et al.*, 2020).

La propagation des bactéries multi-résistantes des animaux destinés à l'alimentation à travers la chaîne alimentaire de l'homme est un problème thérapeutique sérieux (Awad *et al.*, 2016; Benameur, 2016). La fréquence de cette multi-résistance dans le secteur laitier peut être attribuée à l'utilisation généralisée d'antibiotiques dans les pratiques vétérinaires (Hammad *et al.*, 2009). Cette prévalence est peut-être due à l'utilisation intensive et aléatoire des antibiotiques en élevage des bovins qui peuvent jouer un rôle crucial dans la sélection des bactéries résistantes aux antibiotiques et leur dissémination dans les produits laitiers. Néanmoins, la multi-résistance peut avoir accès au lait de réservoir en vrac, soit à partir des glandes mammaires infectées, des pis contaminés et des machines à traire, ou à partir de l'environnement de la ferme laitière (Straley *et al.* 2006).

De plus, il a été observé par le Casfm vétérinaire (2019) que l'utilisation du chloramphénicol est interdite chez les animaux destinés à l'alimentation et en médecine vétérinaire en Algérie (Benameur *et al.*, 2014). Malgré ces interdictions, les niveaux de résistance ont toujours été enregistrés. En raison de la prévalence de la multirésistance et de l'émergence d'une résistance croisée à plusieurs catégories d'antibiotiques parmi les isolats d'*Enterobacteriaceae* provenant des produits laitiers ; des mesures plus efficaces devraient être prises, y compris la mise en œuvre de programmes du contrôle des infections et la gestion des antibiotiques en médecine vétérinaire.

En outre, la résistance aux céphalosporines a été détectée dans des souches cliniques de *Hafnia paralvei* (Sharon *et al.*, 2011) alors que sa première description dans le secteur laitier a été rapportée dans ce travail.

III.2.3. Détection phénotypique et moléculaire des producteurs de BLSE

Les résultats de l'examen phénotypique de la détection des producteurs de BLSE par le test de synergie en double disque (Figure 25) ont montré que (63,16%, 12) parmi 19 *Enterobacteriaceae* sont des producteurs de BLSE. (36,36%, 4) et (61,53%, 8) des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE sont isolés à partir du lait cru et du babeurre respectivement.



Figure 25. Test de synergie positif d'une souche productrice de BLSE.

Toutes les souches ont été criblées par PCR pour la détection des gènes suivants : *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} et *bla*_{SHV}. Les résultats ont montré que douze (12) *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE portaient un total de 23 gènes de BLSE, soit 7 gènes de *bla*_{SHV}, 7 gènes de *bla*_{CTX-M}, et 9 gènes de *bla*_{TEM} (Figure 26).

Quatre (4) *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE isolées à partir du lait cru ont révélé la présence de six (6) gènes de BLSE. Alors que 17 gènes sont détectés parmi huit (8) *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE isolées à partir du babeurre. Le séquençage des gènes de résistance a révélé : *bla*_{TEM-1D}, *bla*_{TEM-104}, *bla*_{SHV-11} et *bla*_{SHV-1}.

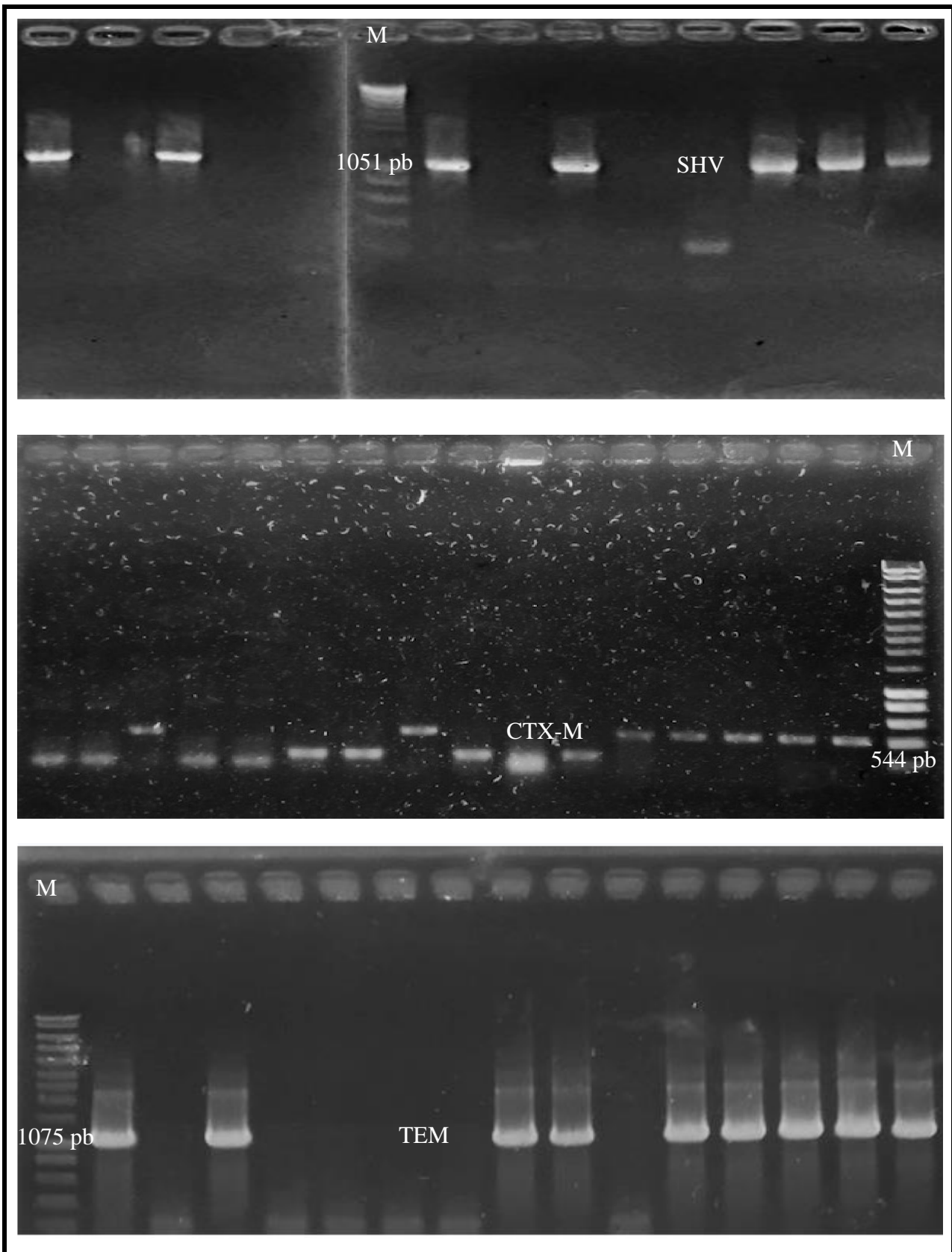


Figure 26. Electrophorèse sur gel d'agarose de l'amplification par PCR des gènes SHV, CTX-M et TEM des isolats. M : marqueur d poids moléculaire (Smart ladder Eurogentec, France).

III.2.3.1. Répartition des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE selon la nature des échantillons

Au total, 12 isolats ont été confirmés comme des producteurs de BLSE parmi 19 *Enterobacteriaceae* résistantes à la ceftazidime ; (33,33%, 4) isolats sont identifiés à partir du lait cru, alors que (66,67%, 8) sont isolés à partir du babeurre (Figure 27).

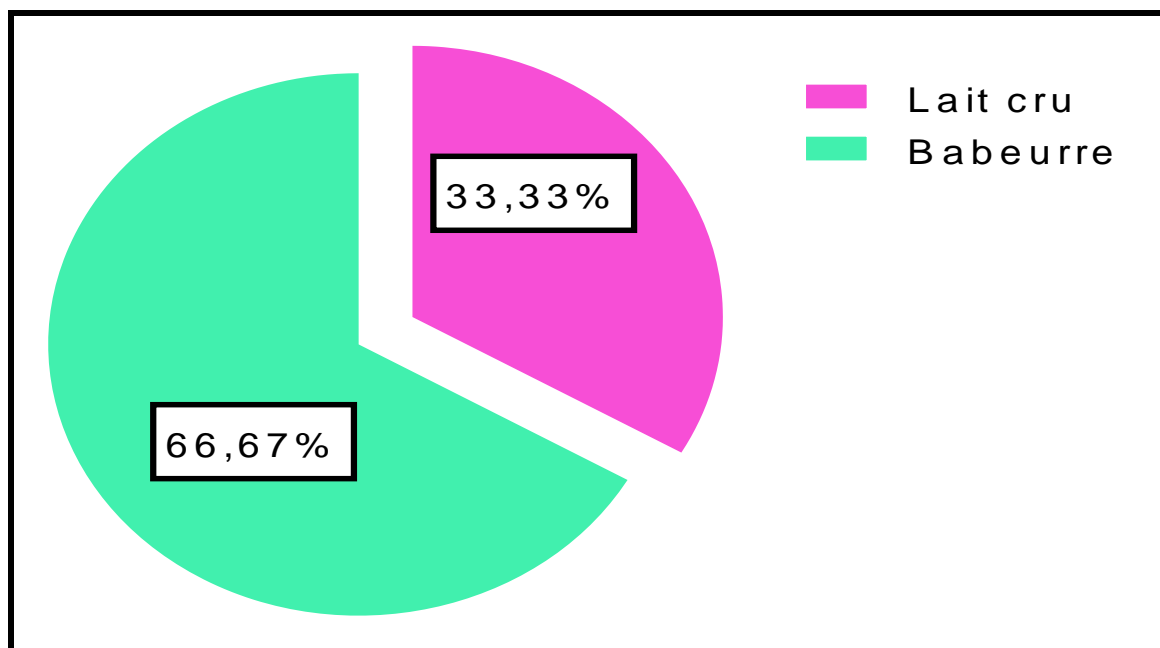


Figure 27. Répartition des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE selon la nature de l'échantillon.

III.2.3.1.1. Les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE isolées du lait cru

Parmi les six (6) isolats résistants à la ceftazidime isolés à partir du lait cru, la production de BLSE a été confirmée phénotypiquement chez quatre (4) *Enterobacteriaceae* résistantes à la ceftazidime ; il s'agit d'*Escherichia coli* SB3, *Klebsiella pneumoniae* SB4, *Klebsiella pneumoniae* SB5, et *Klebsiella pneumoniae* SB6.

Les résultats du PCR et du séquençage ont montré que quatre (4) isolats portaient six (6) gènes de BLSE. 1 *bla*_{CTX-M}, 2 *bla*_{TEM} et 3 *bla*_{SHV} qui ont été détectés dans cette étude et dans d'autres études (Odenthal *et al.*, 2016 ; Badri *et al.*, 2017).

*Bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} et *bla*_{SHV} ont été identifiés respectivement dans 25%, 50% et 75% des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE du lait cru (Figure 28). Un seul gène *bla*_{CTX-M} trouvé dans cette étude, tandis que *bla*_{SHV} suivi par *bla*_{TEM} se sont avérés être les types les plus dominants.

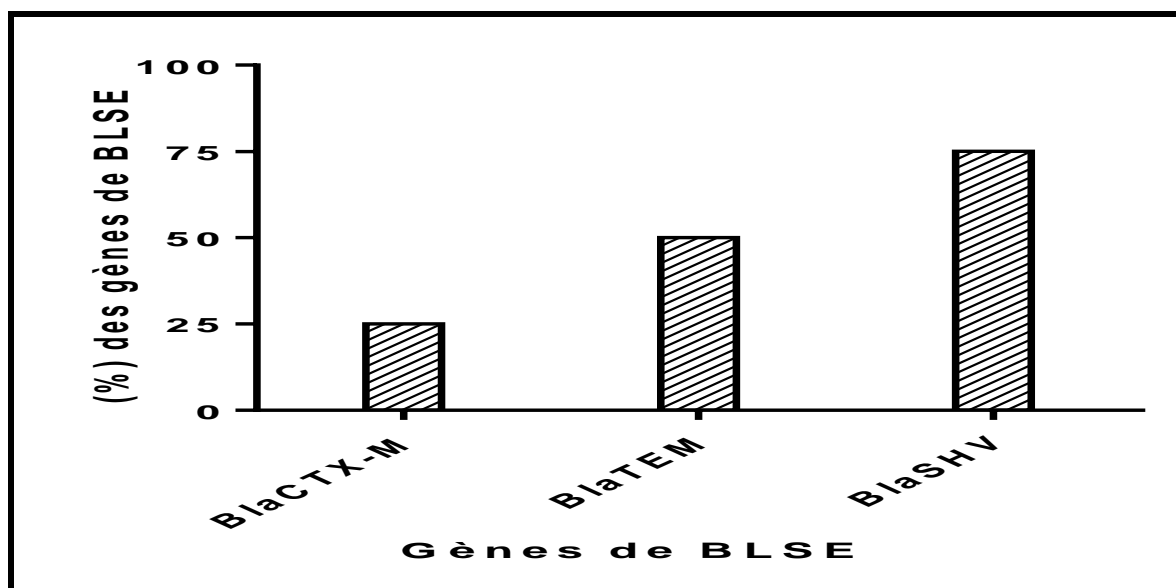


Figure 28. Répartition des gènes de BLSE sur les isolats du lait cru.

Klebsiella pneumoniae SB4 portait les trois gènes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM-1D} et *bla*_{SHV-1}. Alors que *Klebsiella pneumoniae* SB6 hébergeait le gène *bla*_{SHV-1}. En outre, *bla*_{TEM-104} et *bla*_{SHV-1} ont été détectés respectivement chez *Escherichia coli* SB3 et *Klebsiella pneumoniae* SB5. La combinaison des différents types de gènes de BLSE dans le lait cru dans cette étude a été montrée dans un seul isolat ; *Klebsiella pneumoniae* SB4 qui présentait la combinaison des trois gènes de BLSE (*bla*_{CTX-M}/*bla*_{TEM}/*bla*_{SHV}).

Nos résultats sont en accord avec le rapport de Barrios *et al.* (2017) qui ont identifié principalement le *bla*_{SHV} chez *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE (59,1%), et le rapport de Yazdansetad *et al.* (2019) où 70% de *bla*_{SHV} était les plus identifiés chez *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE. Alors que Sharma *et al.* (2010) ont signalés 15 *bla*_{TEM} chez *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE et 13 *bla*_{TEM} chez *E. coli* productrices de BLSE.

III.2.3.1.2. Les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE isolées du Babeurre

La résistance des *Enterobacteriaceae* a été identifiée phénotypiquement chez huit (61,53%, 8) parmi 13 *Enterobacteriaceae* résistantes à la ceftazidime. Les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE positives ont été soumises à une PCR et à un séquençage pour détecter les gènes de BLSE. (61,53%, 8) des isolats portaient (87,5%, 7) du gène *bla*_{TEM}, (75%, 6) du gène *bla*_{CTX-M} et (50%, 4) du gène *bla*_{SHV} (Figure 29). Ces résultats sont corroborés avec les données rapportées par Ye *et al.* (2018) qui ont révélé la prédominance du *bla*_{TEM} (81,9%) suivi du *bla*_{CTX-M} (68,1%) et du *bla*_{SHV} (38,9%) chez les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE isolées à partir des aliments de détail en Chine. La diversité des gènes met très probablement en

évidence des multiples sources de contamination par les producteurs de BLSE (Yaici *et al.* 2017).

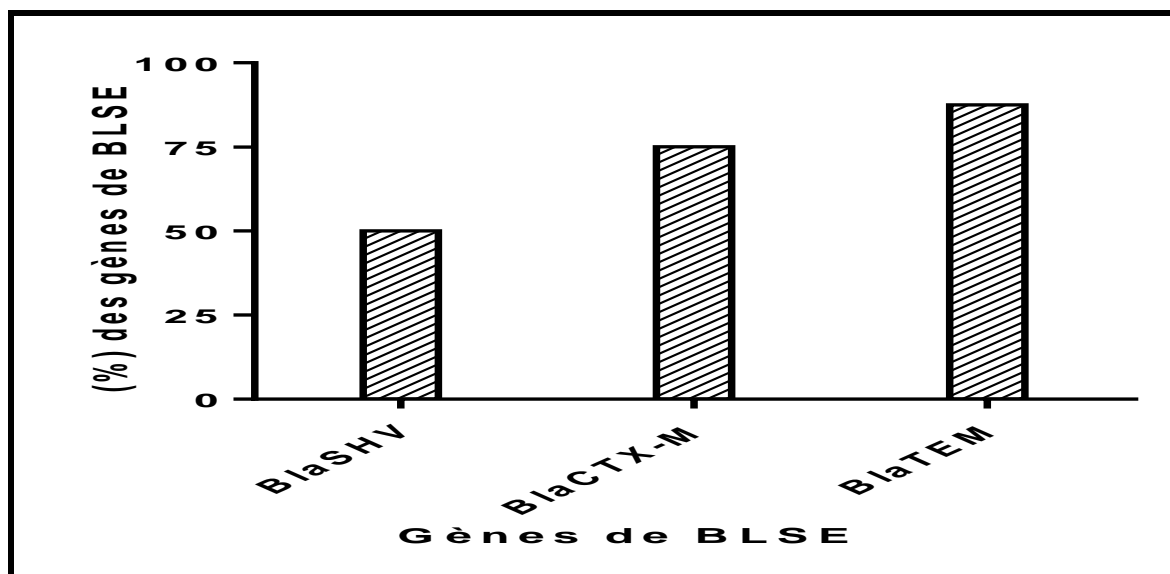


Figure 29. Répartition des gènes de BLSE sur les isolats du babeurre.

De plus, *bla*_{TEM} étant prédominant chez les *Salmonella* productrices de BLSE isolées à partir de la viande de poulet congelée au Bangladesh (Parvin *et al.* 2020). Tandis que dans notre étude nous avons enregistré la prévalence la plus élevée du gène *bla*_{TEM} parmi huit (8) *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE, le séquençage de l'ADN des gènes *bla*_{TEM} a montré l'existence du gène *bla*_{TEM-1D}.

Ce qui est intéressant, le gène *bla*_{TEM-1D} trouvé dans 7 *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE, n'a jamais été signalé dans les produits laitiers ou les produits alimentaires en Algérie. Tandis que, sa description a été rapportée chez des souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE isolée à l'hôpital universitaire de Batna (Loucif *et al.* 2016a). Par conséquent, le gène *bla*_{TEM-1D} trouvé dans la wilaya de Batna peut refléter sa dissémination non seulement dans les souches isolées des produits laitiers, mais aussi dans des souches cliniques. En effet, la détection du gène *bla*_{TEM-1D} dans cette étude est un sujet de préoccupation qui suggère que la chaîne alimentaire du secteur laitier puisse participer à sa prévalence au sein de la population humaine.

Nos résultats ont également révélé une incidence plus élevée du gène *bla*_{CTX-M} (75%). Il convient de noter que *bla*_{CTX-M} a été signalé comme le plus répandu dans le monde (Bevan *et al.*, 2017). Nos résultats étaient plus élevés que ceux de l'étude de Tark *et al.* (2017) qui ont rapporté 66,66% de *bla*_{CTX-M} chez des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE isolées du lait en Corée du Sud. Alors que 95,1% des *bla*_{CTX-M} ont été observés chez des *Enterobacteriaceae*

productrices de BLSE du lait de réservoir en vrac provenant des laitières allemandes (Odenthal *et al.*, 2016).

En Algérie, *bla*_{CTX-M-15} a été enregistré comme étant le plus répandu (Loucif *et al.*, 2016b; Brahmi *et al.*, 2017). Alors que *bla*_{CTX-M-1}, a été détecté comme étant le plus prédominant chez les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE dans les sandwichs prêts à manger à Bejaia (Yaici *et al.*, 2017). De plus, la dominance du *bla*_{CTX-M-15} chez les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE provenant des produits laitiers a été également signalée (Ohnishi *et al.*, 2013 ; Diab *et al.*, 2017).

Un seul gène *bla*_{SHV-11} et 3 gènes *bla*_{SHV-1} ont été identifiés par séquençage chez *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE dans cette étude. Des résultats similaires ont été rapportés par Sudarwanto *et al.* (2015) chez *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE isolées à partir du lait de réservoir en vrac provenant des fermes laitières en Indonésie. Ainsi, le *bla*_{SHV-1} a été signalé chez des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE provenant des fromages traditionnels égyptiens (Hammad *et al.*, 2009).

La coexistence de différents gènes de BLSE dans le même isolat a été signalée (Tekiner *et al.*, 2016 ; Peyman *et al.*, 2017). Dans la présente étude, nous avons identifié la combinaison de différents types de gènes de BLSE dans le babeurre ; la combinaison de trois gènes codant pour la BLSE (*bla*_{CTX-M}/*bla*_{TEM}/*bla*_{SHV}) dans le même isolat s'est produite chez *Klebsiella pneumoniae* (50%, 4), tandis que *Escherichia coli* a révélé la présence de la combinaison *bla*_{CTX-M}/*bla*_{TEM} (7,69%, 1). En outre, *bla*_{TEM} et *bla*_{CTX-M} sans aucune combinaison ont été détectés chez *Escherichia coli*.

Les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE positives ont été détectées dans cinq (5) laiteries situées dans 3 communes de la Wilaya de Batna, il convient de noter que *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE portaient la combinaison de trois gènes de BLSE (*bla*_{CTX-M}/*bla*_{TEM}/*bla*_{SHV}) sont présent dans des laiteries situées dans la même zone.

En outre, *Escherichia coli* productrices de BLSE portaient le gène *bla*_{TEM} sont présent dans des laiteries situées dans la même zone, tandis que *bla*_{CTX-M}/*bla*_{TEM} ont été détectés chez *Escherichia coli* productrice de BLSE situés dans des zones différentes et proches.

Par conséquent, les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE trouvées dans des laiteries de la même zone ou dans des zones proches peuvent refléter une contamination croisée immédiate entre les individus, par exemple en raison des mauvaises pratiques de manipulation par les vendeurs d'aliments (Yaici *et al.*, 2017).

En Algérie, la consommation du lait cru et du babeurre non pasteurisé est très fréquente et peut impliquer un risque sanitaire important pour le consommateur. Il convient de noter que cinq (5) laiteries situées dans 3 des 23 communes à Batna sont considérées comme de possibles réservoirs d'*Enterobacteriaceae* producteurs de BLSE et peuvent se propager dans la communauté à partir de sources communes telles que les vendeurs de produits laitiers.

III.3. Extraction et analyse des principes actifs

III.3.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type *Clevenger*. Les huiles essentielles ont été obtenues à partir des parties aériennes d'*Artemisia herba-alba* Asso et *Thymus algeriensis* Boss. & Reut. Nous avons obtenu une huile essentielle de couleur jaune pâle pour les deux plantes. Le rendement en huiles essentielles était variable ; l'huile d'*Artemisia herba-alba* Asso a enregistré le rendement le plus important (1,3%), alors que l'huile de *Thymus algeriensis* a donné un rendement de 0,5%.

Notre rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* est supérieur de celui révélé par Rekkab *et al.* (2016) qui était de 1% et celui rapporté par Bertella *et al.* (2018) qui était de 0,6%. Cependant, les rendements les plus importants reviennent à l'huile d'*Artemisia herba-alba* collectée au sud de la Jordanie (3%) rapporté par Abu-Darwish *et al.* (2015), et l'huile d'*Artemisia herba-alba* récoltée en Tunisie qui donnait un rendement de 4,86% (Boukrich *et al.*, 2010).

Le rendement en huile de *Thymus algeriensis* dans cette étude est très proche de celui enregistré par Rezzoug *et al.* (2019) qui était de 0,51% provenant de l'huile de *Thymus algeriensis* collecté de l'Atlas saharien algérien. Cependant nos résultats sont inférieurs à celui trouvé précédemment par Dob *et al.* (2006) qui ont enregistré un rendement de 1,13%.

La différence de rendement des huiles essentielles des plantes variait selon les régions agro-climatiques ; variation de climat et le type de sol (Bhaskaruni *et al.*, 1990).

III. 3.2. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles obtenues des parties aériennes d'*Artemisia herba-alba* et de *Thymus algeriensis* ont été analysées par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les différentes compositions chimiques des huiles essentielles identifiées sont présentées dans le tableau 15 et le tableau 16. Les chromatogrammes correspondants sont représentés respectivement sur les figures 30 et 31.

Nous avons déterminé 31 composants chimiques de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*, représentent 96,42% de la composition totale de l'huile. Les résultats ont montré que cette huile est principalement composée des monoterpènes oxygénés (92,71%), suivi des sesquiterpènes oxygénés (2,88%), et enfin des hydrocarbures sesquiterpéniques (0,42%).

Les pourcentages les plus élevés sont la β -thuyone (51,19%), l' α -thuyone (13,22%) et le camphre (8,81%). Nos résultats sont très en accord avec le rapport de Younsi *et al.* (2016) qui ont confirmé la prédominance des monoterpènes oxygénés de l'huile d'*Artemisia herba-alba* en Tunisie où la β -thuyone (41,9%), l' α -thuyone (18,4%) et le camphre (13,2%) sont les principaux composés.

En outre, Abu-Darwish *et al.* (2015) ont rapporté la prédominance des monoterpènes oxygénés à l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* du sud de la Jordanie où le 1,8-cinéole (20,1%), la β -thuyone (25,1%), l' α -thuyone (22,9%) et le camphre (10,5%) sont les principaux composés. Alors que Hatem *et al.* (2018) ont rapporté 30 composés de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* du Liban, dont la plupart sont des hydrocarbures monoterpéniques suivis des monoterpènes oxygénés : α -pinène (45,89%), bornéol (11,3%) et eucalyptol (10,8%).

Tableau 15. Composition chimique (%) de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*.

N°	Composé	tR ^a	IR ^b Literature	IR ^c	Area (%) ^d
1	α -Terpinolene	15,84	1087	1081	0,18
2	β -Thujone	17,09	1105	1104	51,19
3	α -Thujone	17,69	1115	1113	13,22
4	Chrysanthenone	18,19	1125	1120	6,89
5	Camphor	19,33	1143	1140	8,81
6	Sabinaketon	20,22	1156	1150	0,15
7	2(10)Pinen3one, (\bar{n})	20,52	1161	1160	0,50
8	Isothujol	20,76	1165	1164	3,61
9	Terpinen-4-ol	21,58	1177	1171	0,80
10	(1R)(Myrtenal)	22,05	1171	1173	0,19
11	L- α -Terpineol	22,50	1187	1187	0,19
12	<i>Cis</i> -piperitol	22,79	1195	1191	0,41
13	<i>Trans</i> -Piperitol	23,64	1205	1195	0,51
14	Propanal, 2-methyl-3-phenyl	25,64	1238	1231	0,14
15	Carvone	25,95	1242	1241	0,09
16	Piperitone	26,59	1254	1247	0,45
17	Chrysanthenyl acetate	27,28	1248	1248	2,93
18	Isopiperitenone	27,76	1285	1282	0,20
19	Benzenemethanol,4(1methylethyl)-	29,13	1284	1286	0,12
20	Sabinyl acetate	29,39	1288	1290	1,62
21	Piperitenone	32,17	1341	1337	0,20
22	Carvyl propionate	33,32	1341	1350	0,18
23	<i>Cis</i> -Jasmone	35,95	1395	1389	0,54
24	Germacrene-D	40,89	1481	1474	0,42

Suite du tableau					
N°	Composé	tR ^a	IR ^b Literature	IR ^c	Area (%) ^d
25	Limonen-6-ol, pivalate	41,38	1538	1538	0,40
26	Bicyclogermacrene	41,83	1494	1494	0,32
27	Davana ether	43,09	1515	1510	0,24
28	(E)-Nerolidol	46,02	1561	1555	0,17
29	Spathulenol	46,50	1576	1566	1,02
30	Ledol	47,28	1567	1567	0,34
31	Z-à-trans-Bergamotol	48,03	1697	1680	0,39
Monoterpène oxygéné (N° : 1-13,15-18, 20-23)					92,86
Hydrocarbures sesquiterpéniques (N° : 24)					0,42
Sesquiterpène oxygéné (N° : 25-31)					2,88
Autres (N° : 14-19)					0,26
Total identifié					96,42

^aTemps de rétention, ^bIndex de rétention des références; ^cIndice de rétention calculé à partir des temps de rétention par rapport à celui de la série des n-alcanes; ^d%: Superficie des composés.

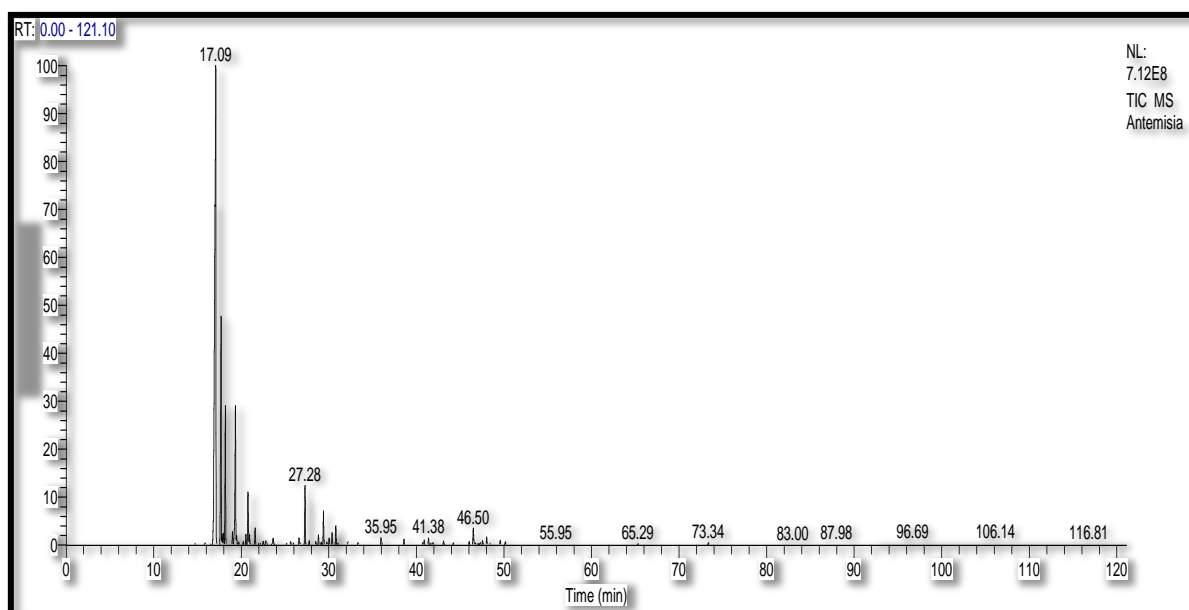


Figure 30. Chromatogramme de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* analysées par CPG-SM.

Les résultats de l'identification de l'huile de *Thymus algeriensis* ont montré une prédominance des monoterpènes oxygénés (84,36%), suivi des hydrocarbures sesquiterpéniques (10,62%), et enfin les sesquiterpène oxygéné (4,04%).

Les monoterpènes oxygénés ; camphre (52,16%) et 1-bornéol (12,72%) ; ont été identifiés comme les principaux composés parmi 35 (99,46%) des composés chimiques de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*, suivis du L- α -terpinéol (5,46%), du terpinen-4-ol (4,04%), du D germacrène (3,94%), linalol (3,71%), acétate de bornyle (2,57%), caryophyllène (2,55%).

Dob *et al.* (2006) ont identifié 55 composés chez l'huile de *Thymus algeriensis* dont le linalol (47,3%), le thymol (29,2%) et le p-Cymène (6,8%) sont les composants principaux. Tandis que Nikolić *et al.* (2014) ont rapporté 45 composés dont le thymol était le principal constituant (38,5%) suivi du p-cymène (8,9%), du terpinène (7,1%), de l'acétate de bornyle (7,0%) et du bornéol (6,0%). Cependant, le bornéol (18,3%), le camphène (11,8%), le camphre (10,0%) et le myrcène (8,6%) ont été signalés comme les constituants majeurs de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* originaire du Maroc (Ouariachi *et al.*, 2014).

Plusieurs études ont rapporté une variation chémotypique des huiles essentielles au sein de la même espèce de plante médicinale (Ali *et al.*, 2010; Younsi *et al.*, 2018; Trindade *et al.*, 2018). Les différences composition chimique des huiles essentielles pourraient être dues à son stade de développement (Lichtfouse, 2009), au moment de la récolte et à la méthode d'extraction (Rahman, 2003). La synergie de toutes les molécules contenues dans les huiles essentielles est importante pour les activités biologiques (Larrazabal-Fuentes *et al.*, 2019), cependant, l'activité antimicrobienne des principaux composants isolés de l'huile essentielle d'*Artemisia annua* a été rapportée (Bilia *et al.*, 2014).

Tableau 16. Composition chimique (%) de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*.

N°	Composé	tR ^a	IR ^b Literature	IR ^c	Area (%) ^d
1	Trans-Sabinene hydrate	14,50	1067	1065	0,99
2	Camphenilone	15,43	1083	1079	0,09
3	δ-Terpinene	15,86	1087	1081	0,61
4	Linalool	16,77	1099	1090	3,71
5	α-Campholene aldehyde	18,24	1124	1122	0,82
6	Camphor	19,60	1143	1140	52,16
7	2,2- Dimethyl-3-vinyl-bicyclo[2,2,1]heptane	20,57	1444	1440	0,44
8	1-Borneol	20,94	1162	1155	12,72
9	Terpinen-4-ol	21,67	1177	1171	4,04
10	L-α-Terpineol	22,62	1187	1187	5,46
11	Verbenone	23,64	1206	1205	0,23
12	cis-Carveol	24,43	1227	1225	0,31
13	Endobornyl acetate	24,93	1284	1283	0,17
14	Carvone	25,97	1242	1241	0,38
15	L Bornyl acetate	28,85	1284	1286	2,57
16	Perilla alcohol	29,62	1296	1296	0,10
17	Copaene	34,49	1376	1376	0,29
18	β-Bourbonene	35,02	1384	1384	0,93
19	α-Gurjunene	36,59	1409	1408	1,11
20	Caryophyllene	37,15	1420	1420	2,55
21	α-Cubebene	37,76	1387	1386	0,12
22	α-Humulene	39,19	1453	1453	0,14
23	Allo-Aromadendrene	39,63	1460	1459	0,43
24	Germacrene D	40,95	1481	1474	3,94

Suite du tableau					
N°	Composé	tR ^a	IR ^b Literature	IR ^c	Area (%) ^d
25	Bicyclogermacrene	41,84	1494	1494	0,28
26	α -Muurolene	42,18	1498	1498	0,15
27	γ -Cadinene	42,92	1513	1513	0,16
28	δ -Cadinene	43,56	1523	1523	0,52
29	α -Elemol	45,02	1548	1547	0,92
30	Palustrol	45,91	1567	1566	0,11
31	Caryophyllene oxide	46,77	1581	1581	1,07
32	<i>Allo</i> -Aromadendrene epoxide	47,41	1631	1629	0,22
33	Ledol	47,93	1567	1567	0,09
34	γ -Eudesmol	49,60	1631	1631	0,27
35	β -Eudesmol	50,55	1650	1650	1,36
	Monoterpène oxygéné (N° :1-6,8-16)				84,36
	Sesquiterpène oxygéné (N° : 29-35)				4,04
	Hydrocarbures sesquiterpéniques (N° : 17-28)				10,62
	Autres (N° : 7)				0,44
	Total identifié				99,46

^aTemps de rétention, ^bIndex de rétention des références; ^cIndice de rétention calculé à partir des temps de rétention par rapport à celui de la série des n-alcanes; ^d%: Superficie des composés.

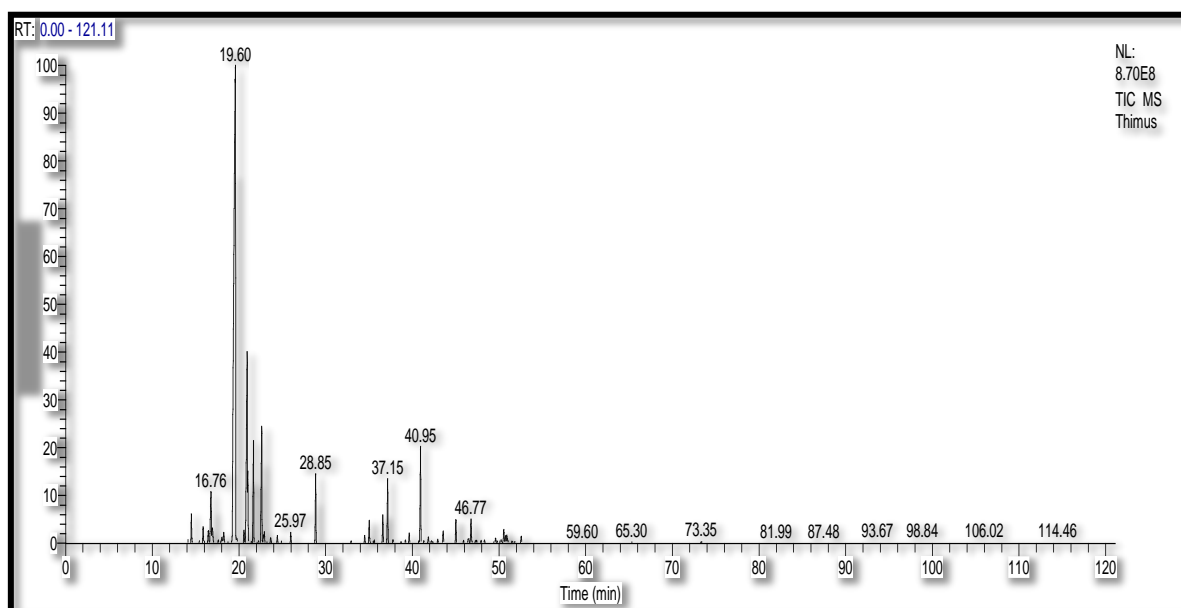


Figure 31. Chromatogramme de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* analysées par CPG-SM.

III. 3.3. Effet des huiles essentielles sur les souches bactériennes

III. 3.3.1. Détermination des zones d'inhibition par la méthode de diffusion sur disque

L'effet inhibiteur des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et de *Thymus algeriensis* a été préalablement testée par la méthode de diffusion sur disque contre 19 isolats d'*Enterobacteriaceae* résistants à la ceftazidime (Tableau 17). Ce test préliminaire permet de mettre en évidence de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.

Tableau 17 : Diamètre (mm) des zones d'inhibition et sensibilité des souches bactériennes aux huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et *Thymus algeriensis*.

Souches	Zone d'inhibition (mm)	
	<i>Artemisia herba-alba</i>	<i>Thymus algeriensis</i>
<i>Hafnia paralvei</i> SB1	12,57±0,74 ⁽⁺⁾	16,11±1,00 ⁽⁺⁺⁾
<i>Enterobacter xiangfangensis</i> SB2	12,26±0,27 ⁽⁺⁾	13,27±0,12 ⁽⁺⁾
<i>Escherichia coli</i> SB3 (BLSE)	11,87±1,41 ⁽⁺⁾	13,54±1,30 ⁽⁺⁾
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB4 (BLSE)	9,75± 0,46 ⁽⁺⁾	10,26± 0,17 ⁽⁺⁾
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB5 (BLSE)	12,24±1,16 ⁽⁺⁾	12,39±1,46 ⁽⁺⁾
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB6 (BLSE)	17,04±1,04 ⁽⁺⁺⁾	16,22±2,46 ⁽⁺⁺⁾
<i>Hafnia paralvei</i> SB7	13,68±0,56 ⁽⁺⁾	16,56±0,44 ⁽⁺⁺⁾
<i>Hafnia paralvei</i> SB8	9,12±0,09 ⁽⁺⁾	10,1±0,99 ⁽⁺⁾
<i>Hafnia paralvei</i> SB9	10±1,57 ⁽⁺⁾	12,08±1,86 ⁽⁺⁾
<i>Klebsiella oxytoca</i> SB10	9±0,40 ⁽⁺⁾	9,51±1,12 ⁽⁺⁾
<i>Citrobacter freundii</i> SB11	11,73±1,26 ⁽⁺⁾	13,08±1,97 ⁽⁺⁾
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB12 (BLSE)	9,54± 0,46 ⁽⁺⁾	9,54±1,52 ⁽⁺⁾
<i>Escherichia coli</i> SB13 (BLSE)	9,29±0,24 ⁽⁺⁾	9,02±0,28 ⁽⁺⁾
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB14 (BLSE)	9,36±0,59 ⁽⁺⁾	9,35±0,76 ⁽⁺⁾
<i>Escherichia coli</i> SB15 (BLSE)	9,02±0,49 ⁽⁺⁾	9,88±0,78 ⁽⁺⁾
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB16	9,75±0,46 ⁽⁺⁾	10,26±0,17 ⁽⁺⁾
<i>Escherichia coli</i> SB17 (BLSE)	9,09±0,30 ⁽⁺⁾	9,02±0,08 ⁽⁺⁾
<i>Escherichia coli</i> SB18 (BLSE)	10,38±1,54 ⁽⁺⁾	9,18±0,57 ⁽⁺⁾
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB19 (BLSE)	9,07±0,49 ⁽⁺⁾	9±0,57 ⁽⁺⁾

Les valeurs sont des moyennes ± écart type (SD) des déterminations en triple exemplaire exprimées en mm, y compris 6 mm du disque de papier.

Les huiles essentielles ont été classées comme (+) sensibles, (++) très sensibles.

Les données ont été analysées par ANOVA combinée au test de Tukey. Les valeurs de p sont inférieures à 5% (p <0,05) et considérées comme significatives.

Les résultats révélant des valeurs de diamètre d'inhibition allant de $9,00 \pm 0,4$ à $17,04 \pm 1,04$ (mm) ont montré que toutes les souches étaient sensibles aux deux huiles testées (Tableau 18) sauf *Klebsiella pneumoniae* SB6 pour les deux huiles essentielles, alors que *Hafnia paralvei* SB1 et *Hafnia paralvei* SB10 sont noté très sensible pour l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*.

Bertella *et al.* (2018) ont rapporté l'utilisation de l'huile d'*Artemisia herba-alba* contre des souches d'*Enterobacteriaceae* productrices de BLSE isolées chez des patients hospitalisés où les zones d'inhibitions moyennes sont de $10,3 \pm 0,5$ mm (*Escherichia coli* ESBL EC_{B1}), $11,3 \pm 0,5$ mm (*Escherichia coli* ESBL EC_{B2}), 11 ± 1 mm (*Klebsiella pneumoniae* ESBL KP_{B1}), $11,6 \pm 0,5$ mm (*Klebsiella pneumoniae* ESBL KP_{B2}) et 17 ± 1 mm (*Proteus mirabilis* ESBL PM_{B1}). En revanche, une étude précédente sur l'huile de *Thymus algeriensis* sur des souches obtenues à partir de la Collection de cultures de type espagnole a rapporté $14,7 \pm 1,2$ mm (*Enterococcus faecalis*), $17,8 \pm 1,7$ mm (*Escherichia coli*) et $15,2 \pm 1,0$ mm (*Pseudomonas aeruginosa*) (Ait-Ouazzou *et al.*, 2010).

II. 3.3.2. Détermination de la CMI et de la CMB

Les valeurs de CMI et de CMB des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et de *Thymus algeriensis* ont été enregistrées dans le tableau 18.

Les valeurs de CMI étaient comprises entre 1,56 mg/mL et 25 mg/mL. L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* présente les valeurs les plus faibles de CMI (1,56 mg/mL) contre *Klebsiella pneumoniae* SB6, *Klebsiella pneumoniae* SB5 et *Klebsiella pneumoniae* SB19, tandis que l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* a enregistré la valeur la plus faible de CMI (1,56 mg/mL) contre *Klebsiella pneumoniae* SB6. De plus, 25 mg/mL a été noté comme la valeur la plus élevée de CMI pour les deux huiles essentielles.

Tableau 18 : Les valeurs de CMI et de CMB des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et de *Thymus algeriensis*.

Strains	CMI (mg/mL)		CMB (mg/mL)	
	<i>Artemisia herba-alba</i>	<i>Thymus algeriensis</i>	<i>Artemisia herba-alba</i>	<i>Thymus algeriensis</i>
<i>Hafnia paralvei</i> SB1	3,12	6,25	12,5	25
<i>Enterobacter xiangfangensis</i> SB2	12,5	12,5	25	25
<i>Escherichia coli</i> SB3 (BLSE)	12,5	12,5	25	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB4 (BLSE)	12,5	6,25	25	12,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB5 (BLSE)	1,56	3,12	12,5	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB6 (BLSE)	1,56	1,56	6,25	12,5
<i>Hafnia paralvei</i> SB7	6,25	6,25	25	12,5
<i>Hafnia paralvei</i> SB8	25	12,5	25	25
<i>Hafnia paralvei</i> SB9	12,5	12,5	25	25
<i>Klebsiella oxytoca</i> SB10	25	25	25	50
<i>Citrobacter freundii</i> SB11	25	12,5	25	12,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB12 (BLSE)	25	12,5	25	25
<i>Escherichia coli</i> SB13 (BLSE)	6,25	12,5	12,5	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB14 (BLSE)	12,5	12,5	25	25
<i>Escherichia coli</i> SB15 (BLSE)	12,5	25	50	50
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB16	1,56	12,5	12,5	25
<i>Escherichia coli</i> SB17 (BLSE)	12,5	25	50	50
<i>Escherichia coli</i> SB18 (BLSE)	12,5	12,5	25	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB19 (BLSE)	12,5	25	25	25

Les données ont été analysées par ANOVA combinée au test de Tukey. Les valeurs de p sont inférieures à 5% ($p < 0,05$) et considérées comme significatives.

De plus, 6,25 mg/mL et 12,5 mg/mL étaient les valeurs les plus faibles de CMB contre *Klebsiella pneumoniae* SB6 pour l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* et de *Thymus algeriensis* respectivement. Alors que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* a montré la CMB la plus élevée (50 mg/mL) contre *Escherichia coli* SB18 et *Escherichia coli* SB20.

En outre, l'huile de *Thymus algeriensis* a révélé la CMB la plus élevée (50 mg/mL) contre *Escherichia coli* SB18, *Escherichia coli* SB20 et *Hafnia paralvei* SB13.

Selon l'étude de Bertella *et al.* (2018), les valeurs de CMI et de CMB obtenues à partir de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* contre *Proteus mirabilis* PM_{B1} BLSE étaient respectivement de 10 mg/mL et 20 mg/mL. Alors que les valeurs de CMI et CMB de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* trouvées dans cette étude sont supérieures aux valeurs des travaux enregistrés par Giweli *et al.* (2013) contre *E. coli* (CMI 0,002 mg/mL, MBC 0,004 mg/mL) et *Proteus mirabilis* (CMI 0,003 mg/mL, CMB 0,05 mg/mL).

Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles détecté dans cette étude peut être dû à la composition chimique des composants des huiles essentielles, aux proportions dans lesquelles elles sont présentes et aux interactions entre elles, mais aussi au micro-organisme lui-même (Jordán *et al.*, 2013).

L'activité antibactérienne pourrait être liée à la présence des monoterpènes oxygénés (Kotan *et al.*, 2007) ; qui sont des composés majeurs de ces deux huiles essentielles dans cette étude. Nos résultats concordent avec les travaux de Mighri *et al.* (2010) dont les huiles essentielles de chémotypes β -thuyone, α -thuyone et camphre avaient un effet antibactérien.

D'autres composants mineurs présents dans les huiles essentielles ont révélé des effets antibactériens tels que le terpinen-4-ol, l' α -terpinéol (Jirovetz *et al.*, 2005), le (E) -caryophyllène et le germacrène-D (Montanari *et al.*, 2011) et peuvent être responsable de l'activité antibactérienne par des interactions synergiques avec les composés volatils présents dans les huiles.

En effet, les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE contaminent fréquemment le lait cru et le babeurre, tandis que le traitement thermique du lait, soit par pasteurisation, soit par traitement Ultra haute température (UHT) inactive les *Enterobacteriaceae*. Cependant, les rapports des médias correspondants et les publicités sur internet suggèrent que le lait cru est nutritionnellement supérieur au lait pasteurisé et UHT (Odenthal *et al.*, 2016). Par conséquent, le consommateur peut facilement s'orienter à boire du lait cru pour profiter des valeurs nutritionnelles essentielles du lait cru. Cependant, la consommation du lait cru pose de sérieux

problèmes de santé car elle ne contribue pas seulement à la propagation des bactéries pathogènes, mais elle est également un vecteur de propagation de la multi-résistance (Badri *et al.*, 2017).

Par conséquent, on a pensé à trouver comment préserver la valeur nutritionnelle du lait cru et du babeurre et supprimer les bactéries pathogènes et la propagation des bactéries multi-résistante sans traitements thermiques d'une part, et d'autre part l'incidence dans laquelle les agents pathogènes d'origine alimentaire producteurs de BLSE se trouvent dans les produits laitiers pasteurisés, fait penser au additif alimentaire, en particulier ceux naturels pour s'orienter vers des alternatives plus naturelles, et pour supprimer les additifs conservateurs chimiques.

Compte tenu de leur richesse en antimicrobiens naturels et de leur efficacité antibactérienne contre les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE, l'utilisation des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et de *Thymus algeriensis* peut améliorer son efficacité dans la préservation de la qualité du lait et du babeurre et devrait être envisagé dans le secteur laitier.

*Conclusion et
perspectives*

Cette étude est la première enquête ethnobotanique dans la région d'El Kantara ; la porte du Sahara algérien, elle a été menée pour préserver le patrimoine autochtone traditionnel. Les résultats ont documenté une richesse de plantes médicinales indigènes et de connaissances traditionnelles indigènes ; la population locale utilise diverses plantes médicinales pour soigner plusieurs maux courants, et même les exploite à des fins alimentaires.

Cette enquête a documenté l'utilisation traditionnelle de 60 espèces appartenant à 29 familles par la population locale dont 11 espèces sont utilisées à des fins alimentaires. En outre, plusieurs plantes utilisées pour traiter des maladies spécifiques avec un haut niveau de fidélité sont recommandées pour d'autres études pharmacologiques sur les composés phytochimiques précieux afin d'isoler les composés bioactifs et de valider leur utilisation, ainsi, cette enquête ethnobotanique a permis de recenser les plantes médicinales utiles dans le domaine alimentaire.

Par conséquent, les résultats de cette étude ethnobotanique représentent des informations de base pour les chercheurs en plantes médicinales afin de développer des stratégies pour développer des liens entre les guérisseurs traditionnels locaux et les institutions scientifiques en intégrant les connaissances traditionnelles aux concepts scientifiques afin d'améliorer les diverses industries pharmaceutiques et agro-alimentaires.

De plus, la dissémination des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE isolées à partir du lait cru et du babeurre des bovins soulignent leur rôle potentiel dans la prévalence des *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE multi-résistantes dans la communauté et peuvent suggérer que le lait cru et le babeurre des bovins pourraient être l'origine ou la cible de ces agents pathogènes résistants aux antibiotiques et présenter un risque critique pour la santé des consommateurs.

Des recherches supplémentaires sont néanmoins nécessaires sur les isolats de BLSE provenant du lait cru et du babeurre des bovins pour clarifier leur rôle dans cette propagation au sein de la population humaine. De plus, une pratique hygiénique stricte est nécessaire afin de minimiser l'utilisation abusive des antimicrobiens dans le secteur laitier.

Par ailleurs, la présente étude met en évidence l'importance des effets antibactériens des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et de *Thymus algeriensis* contre les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE.

Dans cette perspective, ces résultats permettent de proposer l'évaluation de l'utilisation des huiles essentielles dans le secteur laitier ; en exploitant des agents antibactériens naturels, pour améliorer la durée de conservation du lait cru et du babeurre et éliminer l'utilisation des conservateurs artificiels. Néanmoins, d'autres études *in vivo* sont nécessaires pour améliorer la sécurité des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et de *Thymus algeriensis* pour leur exploitation dans le secteur laitier.

*Références
bibliographiques*

Abbott, S.L., Moler, S., Green, N., Tran, R.K., Wainwright, K., Janda, J.M. (2011). Clinical and laboratory diagnostic characteristics and cytotoxic potential of *Hafnia alvei* and *Hafnia paralvei* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(9), 3122–3126.

Abd-El-Malek, Y. (1978). Traditional Egyptian dairy fermentations. In: Stantan, W.R., Da Silva, E.J. (Eds.). *Global Impact of Food Microbiology (GIAM)—State of the Art: GIAM and its Relevance to Development in Developing Countries*. Kuala Lumpur: University of Malaya Press. Pp. 198–208.

Abu-Darwish, M.S., Cabral, C., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Efferth, T., Salgueiro, L. (2015). *Artemisia herba-alba* essential oil from Buseirah (South Jordan): Chemical characterization and assessment of safe antifungal and anti-inflammatory doses. *Journal of Ethnopharmacology*, 174, 153–160.

Abu-irmaileh, B.E., Afifi, F.U. (2003). Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. *Journal of Ethnopharmacology*, 89, 193–197.

Aburjai, T., Hudaib, M., Tayyem, R., Yousef, M., Qishawi, M., 2007. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Jordan, the Ajloun Heights region. *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 294–304.

Achoura, A., Belhamra, M. (2010) Aperçu sur la faune arthropodologique des palmeraies d'El-Kantara. *Courrier du Savoir*, 10, 93–101.

Adams, R.P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*, Allured Publishing Corporation USA.

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) (2008). *Recommandations Relatives Aux Critères de Qualité Des Huiles Essentielles Contribution Pour l'Évaluation de La Sécurité* *Recommandations Relatives Aux Critères de Qualité Des Huiles Essentielles*.

Agiel, N., Mericli, F. (2017). A survey on the aromatic plants of Libya. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(3), S304–S308.

Ahmad, S., Alam, K., Wariss, H., Anjum, S., Mukhtar, M. (2014). Ethnobotanical studies of plant resources of Cholistan desert, Pakistan. *International Journal of Science and Research*, 3, 1782–1788.

- Ait-ouazzou, A. Conchello, P. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 2643–2651.
- Alais, C. (1975). *Science du lait, Principe des techniques laitières* (3 ed.). Paris : Edition SEPAIC.
- Alexiades, N.M. (1996). *Selected guidelines for ethnobotanical research: a field manual*. New York: The New York Botanical Garden.
- Ali, A. A., Sayed, H. M., Ibrahim, S. R. M., Zaher, A. M. (2013). anti-inflammatory activities of *Euphorbia peplus* L . *Phytopharmacology*, 4(1), 69–80.
- Ali, I.B.E.H., Chaouachi, M., Bahri, R., Chaieb, I., Boussaïd, M., Harzallah-Skhiri, F. (2015). Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Industrial Crops and Products*, 77, 631–639.
- Ali, I.B.E.H., Zaouali, Y., Bejaoui, A. and Boussaid, M. (2010). Variation of the chemical composition of essential oils in Tunisian populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (*Lamiaceae*) and implication for conservation. *Chemistry & Biodiversity*, 7, 1276–1289.
- Al-Mahrezi, J. A., Al-Sabahi, J. N., Akhtar, M. S., Selim, D., Weli, A. M. (2011). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(12), 3166–3169.
- Alzweiri, M., Sarhan, A., Al Mansi, K., Hudaib, M., Aburjai, T. (2011). Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Jordan, the Northern Badia region. *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 27–35.
- Amador, P., Fernandes, R., Prudêncio, C., Brito, L. (2009). Resistance to β -lactams in bacteria isolated from different types of Portuguese cheese. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(4), 1538–1551.
- Ambler, R.P., Coulson, A.F., Frere, J.M., Ghuysen, J.M., Joris, B., Forsman, M., Levesque, R.C., Tiraby, G., Waley, S.G. (1991). A standard numbering scheme for the class A β -lactamases. *Biochemical Journal*, 276, 269–270.
- Asghari, G., Gholamali, H., Mahmoudi, Z., Asghari, M. (2014). Diurnal Variation of Essential of the Oil Components of *Pycnocycla spinosa* Decne. ex Boiss. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 9(1), 35–38.
- Association Française de Normalisation (AFNOR). (1986). *Huiles essentielles* 5ème édition. Paris : AFNOR.

- Athmouni, K., Belghith, T., Bellassouad, K.E.A. (2015). Effect of solvent polarity on the content of biomolecules and antioxidant activity of *Thapsia garganica* (Apiaceae). Alger. Journal of Natural Products, 3, 194–208.
- Awad, A., Arafat, N. and Elhadidy, M. (2016). Genetic elements associated with antimicrobial resistance among avian pathogenic *Escherichia coli*. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 15(1).
- Baba Aissa, F. (1991). Les plantes medicinal en Algérie. Bouchéne et Ad Diwan, Alger.
- Babic, M., Hujer, A. M., Bonomo, R. A. (2006). What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. Drug Resistance Updates, 9, 142–156.
- Babushok, V.I., Linstrom, P.J. and Zenkevich, I.G. (2011). Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. Journal of Physical and Chemical Reference Data. 40 (4), 043101.
- Badri, A.M., Ibrahim, I.T., Mohamed, S.G., Garbi, M.I., Kabbashi, A.S. and Arbab, M.H. (2017). Prevalence of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Raw Milk Samples in Al Jazirah State, Sudan. Journal of Molecular Biology, 7(1), 201.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils: a review. Food and Chemical Toxicology, 46, 446–475.
- Ballais, E.B., Ballais, J.L. (1989). Encyclopédie berbère 7.Aix-En-Provence. Edisud.
- Bandyopadhyay, S., Banerjee, J., Bhattacharyya, D., Samanta, I., Mahanti, A., Dutta, T.K., Ghosh, S., Nanda, P.K., Dandapat, P., Bandyopadhyay, S. (2018). Genomic identity of fluoroquinolone-resistant *bla*_{CTX-M-15}-Type ESBL and pMampC β -Lactamase Producing *Klebsiella pneumoniae* from Buffalo Milk, India. Microbial Drug Resistance, 24(9), 1345–1353.
- Barkaoui, M., Katiri, A., Boubaker, H., Msanda, F. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha and Tiznit (Western Anti-Atlas), Morocco. Journal of Ethnopharmacology, 198, 338–350.
- Barrios, H., Garza-Ramos, U., Mejia-Miranda, I., Reyna-Flores, F., Sánchez-Pérez, A., Mosqueda-García, D. de Silva-Sanchez, J. (2017). ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: The most prevalent clinical isolates obtained between 2005 and 2012 in Mexico. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 10, 243–246.

- Barthelmy, M., Peduzzi, J., Ben Yaghlane, H., Labia, R. (1988). Single amino acid substitution between SHV-1 β -lactamase and cefotaxime-hydrolyzing SHV-2 enzyme. *FEBS Letters*, 231, 217–220.
- Baser, K.H.C., Buchbauer, G. (2016). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications* (2 ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Bauernfeind, A., Stemplinger, I., Jungwirth, R., Mangold, P., Amann, S., Akalin, E., Ang, O., Bal, C., Casellas, J.M. (1996). Characterization of β -Lactamase Gene *bla_{PER-2}*, which encodes an extended-spectrum class A β -lactamase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 40, 616–620.
- Bellakhdar, J., Claisse, R., Fleurentin, J., Younos, C. (1991). Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. *Journal of Ethnopharmacology*, 35(2), 123–143.
- Ben Amor, K., Cornelius, A., Mahjoub, A., Thonart, P.H. (1998). Identification de la flore lactique du lait fermenté traditionnel tunisien (Lben) et évaluation des composés aromatisants. *Microb. Hyg. Alim (Sousse)*, 10, 31–36.
- Ben Jemaa, H.B., Khlifi, S., Hmed, H.B., Karmous, I., Benzarti, A., Elati, J., Aouidet, A. (2015). Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of *Artemisia herba-alba* extract on experimental diabetes. *International Journal of Pharmacology*, 11, 552–60.
- Ben Jemaa, M., Falleh, H., Neves, M.A., Isoda, H., Nakajima, M. and Ksouri, R. (2017). Quality preservation of deliberately contaminated milk using thyme free and nanoemulsified essential oils. *Food Chemistry*, 217, 726–734.
- Benameur, Q., Ben-Mahdi, M.-H., Boutaiba, B. M., Tali-Maamar, H., Assaous, F., Guettou, B. and Rahal, K. (2016). Analysis of high levels of multidrug resistant *Escherichia coli* from healthy broiler chickens in Western Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 10(42), 1792–1797.
- Benameur, Q., Gervasi, T., Pellizzeri, V., Plúchtová, M., Tali-Maama, H., Assaous, F., Guettou, B., Rahal, K., Grušová, D., Dugo, G., Marino, A. and Ben-Mahdi, M.H. (2018). Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* essential oil alone and in combination with cefotaxime against *bla_{ESBL}* producing multidrug resistant *Enterobacteriaceae* isolates. *Natural Product Research*, 33, 2647–2654.
- Benameur, Q., Guemour, D., Hammoudi, A., Aoudia, H., Aggad, H., Humblet, M.-F., Saegerman, C. (2014). Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Chickens in West of Algeria. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 13(1), 366–370.

- Benarba, B. (2016). Medicinal plants used by traditional healers from South-West Algeria: An ethnobotanical study. *Journal Intercultural Ethnopharmacology*, 5, 320–330.
- Benarba, B., Belabid, L., Righi, K., Bekkar, A.A., Elouissi, M., Khaldi, A., Hamimed, A. (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*, 175, 626–637.
- Benkerroum, N., Tamime, A. Y. (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small Industrial scale. *Food Microbiology*, 21, 399–413.
- Benkerroum, N., Tantaoui-Elaraki, A., El Marrakchi, A. (1984). Hygienic quality of Moroccan lben. *Microbiol. Alim. Nutr.*, 2, 199–206.
- Berlin, E.A., Berlin, B. (2005). Some Field Methods in Medical Ethnobiology. *Field methods*, 17 (3), 235–268.
- Bertella, A., Benlahcen, K., Abouamama, S., Pinto, D.C.G.A., Maamar, K., Kihal, M. and Silva, A.M.S. (2018). Industrial Crops & Products *Artemisia herba-alba* Asso. essential oil antibacterial activity and acute toxicity. *Industrial Crops and Products*, 116, 137–143.
- Berton, L.P. (2007). *Chemical Engineering Research Trends*. New York: Nova Science Publishers.
- Bevan, E.R., Jones, A.M., Hawkey, P.M. (2017). Global epidemiology of CTX-M β -lactamases: Temporal and geographical shifts in genotype. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(8), 2145–2155.
- Bevilacqua, A., Corbo, M.R., Sinigaglia, M. (2010). *Application of Alternative Food-preservation Technologies to Enhance Food Safety and Stability*. UAE : Bentham Science Publishers.
- Bezza, L., Mannarino, A., Fattarsi, K., Mikail, C., Abou, L., Hadji-Minaglou, F., Kaloustian, J. (2010). Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytotherapie*, 8, 277–281.
- Bibi, S., Sultana, J., Sultana, H., Malik, R.N. (2014) Ethnobotanical uses of medicinal plants in the highlands of Soan Valley, Salt Range, Pakistan, *Journal of Ethnopharmacology*, 155, 352–361.
- Bilia, A. R., Santomauro, F., Sacco, C., Bergonzi, M. C. and Donato, R. (2014). Essential oil of *Artemisia annua* L.: An extraordinary component with numerous antimicrobial properties. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, ID 159819.

- Board, N. (2011). The complete technology book of essential oils (aromatic chemicals). Delhi: Asia Pacific Business Press.
- Bonet, M.À., Parada, M., Selga, A., Vallès, J. (1999). Studies on pharmaceutical ethnobotany in the regions of L'Alt Emporda and Les Guilleries (Catalonia, Iberian Peninsula). *Journal of Ethnopharmacology*, 68, 145–168.
- Bord, J. (1981). Cartographie de l'utilisation du sol dans l'Est algérien : essai de zonage agricole. These Dr. Univ. Paul Valéry - Montpellier III.
- Bouasla, A., Bouasla, I. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine*, 36, 68–81.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G. (2013). Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 395–402.
- Bourgou, S., Tammar, S., Salem, N., Mkadmini, K., Msaada, K. (2016). Phenolic composition, essential oil, and antioxidant activity in the aerial part of *Artemisia herba-alba* from several provenances: A comparative study. *International Journal of Food Properties*, 19, 549–563.
- Boutaghane, N., Voutquenne-Nazabadioko, L., Simon, A., Harakat, D., Benlabed, K., Kabouche, Z. (2013). A new triterpenic diester from the aerial parts of *Chrysanthemum macrocarpum*. *Phytochemistry Letters*, 6(4), 519–525.
- Bradford, P.A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14, 933–951.
- Bradford, P.A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*, 14, 933–951.
- Brahmi, S., Touati, A., Dunyach-Remy, C., Sotto, A., Pantel, A., Lavigne, J.P. (2018). High Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* in Wild Fish from the Mediterranean Sea in Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 24(3), 290–298.
- Breitmaier, E. (2006). Terpenes, flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. Weinheim : Wiley-VCH Verlag.

- Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buyser, M-L., Collette, C., Garin-Bastuji, B., Thorel, M.F (1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. *Sci. Technol. Off. Int. Epiz.*, 16(1), 452–471.
- Brown, W.H., Iverson, B.L., Anslyn, E.V., Foote, C. S. (2013). *Organic chemistry* (7 ed.). USA: Cengage Learning.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales* (3 ed.). Paris : Tec & Doc. Éditions Médicales Internationales-Lavoisier.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales* (4 ed.). Paris : Tec & Doc. Éditions Médicales Internationales-Lavoisier.
- Brutti, C.B., Pardo, M.F., Caffini, N.O., Natalucci, C.L. (2012). *Onopordum acanthium* L. (*Asteraceae*) flowers as coagulating agent for cheesemaking. *LWT - Food Science Technology*, 45, 172–179.
- Bukvicki, D., Giweli, A., Stojkovic, D., Vujisic, L., Tesevic, V., Nikolic, M., Sokovic, M., Marin, P.D. (2018). Short communication: Cheese supplemented with *Thymus algeriensis* oil, a potential natural food preservative. *Journal Dairy Science*, 101, 3859–3865.
- Buronzo, A. M. (2008). *Le Grand Guide des Huiles Essentielles : Santé, Beauté, Bien être*. Hachette Pratique.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.
- Bush, K., Jacoby, G.A., Medeiros, A.A. (1995). A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39, 1211–1233.
- Bush, K., Bradford, P.A. (2016). β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(8), a025247.
- Bush, K. (2018). Past and present perspectives on β -Lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62 (10), 1–20.
- Bush, K., Bradford, P.A. (2019). Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors. *Nature Reviews Microbiology*, 17, 295–306.
- Caivano, J.L., Buera, M.P. (2012). *Color in food: technological and psychophysical aspects*. New York: Boca Raton: CRC Press.

- Capillini, S. (2012). *The Complete Spa Book for Massage Therapists*. Cengage Learning.
- CA-SFM. (2019). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie recommandations vétérinaires. Société Française de Microbiologie. Paris : Institut Pasteur.
- CA-SFM/EUCAST. (2019). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Société Française de Microbiologie. Paris : Institut Pasteur.
- Casiglia, S., Riccobono, L., Bruno, M., Rosselli, S., Senatore, F., Senatore, F. (2016). Chemical composition of the essential oil from *Thapsia garganica* L. (*Apiaceae*) grown wild in Sicily and its antimicrobial activity. *Natural Product Research* 30, 1042–1052.
- Chammas, G.I., Saliba, R., Corrieu, G., Béal, C. (2006). Characterisation of lactic acid bacteria isolated from fermented milk “laban”. *International Journal of Food Microbiology*, 110, 52–56.
- Chandan, R. C., Kilara, A., Shah, N.P. (2016). *Dairy Processing and Quality Assurance* (2 ed.). UK: John Wiley & Sons, Wiley Blackwell.
- Chander, M.P., Kartick, C., Gangadhar, J., Vijayachari, P. (2014). Ethno medicine and healthcare practices among Nicobarese of Car Nicobar - An indigenous tribe of Andaman and Nicobar Islands. *Journal of Ethnopharmacology*, 158, 18–24.
- Chemat, F., Cravotto, G. (2013). *Microwave-Assisted Extraction for Bioactive Compounds, Theory and Practice*. New York: Springer.
- Chiesa, L.M., DeCastelli, L., Nobile, M., Martucci, F., Mosconi, G., Fontana, M., Castrica, M., Arioli, F., Panseri, S. (2020). Analysis of antibiotic residues in raw bovine milk and their impact toward food safety and on milk starter cultures in cheese-making process. *Lwt*, 131, 109783.
- Chograni, H., Zaouali, Y., Rajeb, C., Boussaid, M. (2010). Essential oil variation among natural populations of *Lavandula multifida* L. (*Lamiaceae*). *Chemistry and Biodiversity*, 7(4), 933–942.
- Chu, C.J., Kemper, K.J. (2001). Lavender (*Lavandula* spp.). *Longwood Herb. Task Force*, 1–32.
- Codex Alimentarius (1999). Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999.
- Croguennec, T., Jeantet, R., Brulé, G. (2008). *Fondements physicochimiques de la technologie laitière*. Paris: Tec & Doc, Lavoisier.
- Cussy-Poma, V., Fernández, E., Rondevaldova, J., Foffová, H., Russo, D. (2017). Ethnobotanical inventory of medicinal plants used in the Qampaya District, Bolivia. *Bol. Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromat*, 16, 68–77.

- Damian, P., Damian, K. (1995). *Aromatherapy Scent and Psyche*. Canada: Healing Arts Press, Rochester.
- Davis, G.S., Price, L.B. (2016). Recent Research Examining Links Among *Klebsiella pneumoniae* from Food, Food Animals, and Human Extraintestinal Infections. *Current Environmental Health Reports*, 3(2), 128–135.
- Diab, M., Hamze, M., Bonnet, R., Saras, E., Madec, J.Y. and Haenni, M. (2017). OXA-48 and CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamases in raw milk in Lebanon: Epidemic spread of dominant *Klebsiella pneumoniae* clones. *Journal of Medical Microbiology*, 66, 1688–1691.
- Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T. and Chelghoum, C. (2006). Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *International Journal of Aromatherapy*, 16, 95–100.
- Dortet, L., Poirel, L., Nordmann, P. (2012). Rapid identification of carbapenemase types in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. by using a biochemical test. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 56, 6437–6440.
- Drawz, S.M., Bonomo, R.A. (2010). Three decades of β -lactamase inhibitors. *Clinical microbiology reviews*, 23, 160–201.
- Dris, R., Jain, S.M. (2004). *Production practice and quality assessment of food corp. Quality handling and evaluation*, Vol. 3. London: Kluwer Academic Publication.
- Eddouks, M., Ajebli, M., Hebi, M. (2017). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (Province of Errachidia), Morocco. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 516–530.
- Eisenberger, D., Carl, A., Balsliemke, J., Kämpf, P., Nickel, S., Schulze, G., Valenza, G. (2018). Molecular Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* isolates from Milk Samples of Dairy Cows with Mastitis in Bavaria, Germany. *Microbial Drug Resistance*, 24(4), 505–510.
- El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Amarti, F., Rahouti, M., Aafi, A., Ismaili, M.R., Farah, A. (2010). Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth contre les champignons de pourriture du bois. *Acta Botanica Gallica*, 2, 285–94.
- El Hafian, M., Benlandini, N., Elyacoubi, H., Zidane, L., Rochdi, A. (2014). Étude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida-Outanane (Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, 81(1), 7198.

- El Salabi, A., Walsh, T.R., Chouchani, C. (2013). Extended spectrum β -lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 39(2), 113–122.
- Ennajar, M., Afloulous, S., Romdhane, M., Ibrahim, H., Cazaux, S., Abderraba, M., Raies, A., Bouajila, J. (2011). Influence of the Process, Season, and Origin on Volatile Composition and Antioxidant Activity of *Juniperus phoenicea* L. Leaves Essential Oils. *Journal of Food Science*, 76, 224–230.
- Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Savagnac, A., Abderraba, M., Raies, A., Romdhane, M. (2010). The influence of organ, season and drying method on chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of *Juniperus phoenicea* L. essential oils. *Journal of Science Food Agriculture*, 90, 462–470.
- Fadli, M., Pagès, J.M., Mezrioui, N.E., Abbad, A. and Hassani, L. (2016). *Artemisia herba-alba* Asso and *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf essential oils and their capability to restore antibiotics efficacy. *Industrial Crops and Products*, 89, 399–404.
- Fajinmi, O.O., Olarewaju, O.O., Staden, J.V. (2017). Traditional Use of Medicinal and Aromatic Plants in Africa. *Med. Aromat. Plants World*, 3, 61–76.
- Felsenstein, L. (1985). Confidence Limits on Phylogenies: an Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, 4(39), 783–791.
- Fernández-Salguero, J., Tejada, L., Gómez, R. (2002). Use of powdered vegetable coagulant in the manufacture of ewe's milk cheeses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 464–468.
- Ferreira, W.S., Alencar, N.L., Albuquerque, U.P. (2014). Methods for data collection in medical ethnobiology. In: Albuquerque, U.P., Fernandes Cruz da Cunha, L.V., Paiva de Lucena, R.F., Alves, R.R. (Eds). *Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology*. New York : Humana Press. Pp. 111–121.
- Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Scheffer, J.J.C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23, 213–226.
- Flamini, G. (2003). Acaricides of natural origin, personal experiences and review of literature (1990–2001). *Studies in Natural Products Chemistry*, 28, 381–451.

- Fox, P. F. (2003). Significance of indigenous enzymes in milk and dairy products. In: Whitaker, J.R., Voragen, A.G.J., Wong, D.W.S. (Eds.). Handbook of Food Enzymology. New York : Marcel Dekker Inc. Pp. 255–278.
- Francis Xavier, T., Kannan, M., Auxilia, A. (2015). Observation on the traditional phytotherapy among the Malayali tribes in Eastern Ghats of Tamil Nadu, South India. Journal of Ethnopharmacology, 165, 198–214.
- Ghanmi, M., Satrani, B., Aberchane, M., Ismaili, M. R., Aafi, A., El Abid, A. (2011). Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc, les milles et une vertu. Rabat : Centre de Recherche.
- Ghazaei, C. (2019). Journal of Medical Bacteriology Phenotypic and molecular detection of Beta-Lactamase enzyme produced by *Bacillus cereus* isolated from pasteurized and raw milk. Journal of Medical Bacteriology, 8(3), 1–7.
- Ghorbani, A., Naghibi, F., Mosaddegh, M. (2006). Ethnobotany, ethnopharmacology and drug discovery. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2, 109–118.
- Giweli, A.A., Džamić, A.M., Soković, M.D., Ristić, M.S. and Marin, P.D. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. Central European Journal of Biology, 8, 15–18.
- González-Tejero, M.R., Casares-Porcel, M., Sánchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutiérrez, J.M., Molero-Mesa, J., B, A.P., Giusti, M.E., Censorii, E., C, C. de P., Della, A., Paraskeva-Hadijchambi, D., Hadjichambis, A., Houmani, Z., El-Demerdash, M., El-Zayat, M., Hmamouchi, M., ElJohrig, S. (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area : Synthesis of the results of the project Rubia. Journal of Ethnopharmacology, 116, 341–357.
- Gootz, T.D. (2004). Global dissemination of β -lactamases mediating resistance to cephalosporins and carbapenems. Expert Review of Anti-infective Therapy, 2, 317–327.
- Gould, F. (2003). Arometherapy for holistic therapists, London: Nelson Thornes.
- Gourreau, J.M. (1995). Accidents et maladies du trayon. France : Edition France Agricole.
- Guardiola, F., Dutta, P.C., Codony, R., Savage, G.P. (2002). Cholesterol and Phytosterol Oxidation Products: Analysis, Occurrence, and Biological Effects. AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Guarrera, P.M., Forti, G., Marignoli, S. (2005). Ethnobotanical and ethnomedicinal uses of plants in the district of Acquapendente (Latium, Central Italy). Journal of Ethnopharmacology, 96, 429–444.

- Guiraud, J. (2003). Microbiologie alimentaire. Edition Dunod.
- Guizani, N., Kasapis, S., Al-Ruzeiki, M. (2001). Microbial, chemical and rheological properties of Laban (cultured milk). *International Journal of Food Science & Technology*, 36, 199–205.
- Güler, B., Manav, E., Uıurlu, E. (2015). Medicinal plants used by traditional healers in Bozüyük (Bilecik-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 173, 39–47.
- Gürbüz, I., Üstün, O., Yesilada, E., Sezik, E., Kutsal, O. (2003). Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1), 93–97.
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects Medicine*, 27, 1–93.
- Gutiérrez, S., Martínez-Blanco, H., Rodríguez-Aparicio, L.B., Ferrero, M.A. (2016). Effect of fermented broth from lactic acid bacteria on pathogenic bacteria proliferation. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2654–2665.
- Hać-Szymanczuk, E., Cegiełka, A., Lipinska, E., Piwowarek, K. (2017). Application of rosemary for the prolongation of microbial and oxidative stability in mechanically deboned poultry meat from chickens. *Italian Journal of Food Science*, 29, 329–342.
- Haeggman, S., Lofdahl, S., Burman, L.G. (1997). An allelic variant of the chromosomal gene for class A beta-lactamase K2, specific for *Klebsiella pneumoniae*, is the ancestor of SHV-1. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 41, 2705–2709.
- Hammad, A.M., Ishida, Y., Shimamoto, T. (2009). Prevalence and molecular characterization of ampicillin-resistant *Enterobacteriaceae* isolated from traditional egyptian domiati cheese. *Journal of Food Protection*, 72(3), 624–630.
- Hammada, A.M., Hoffmann, M., Gonzalez-Escalona, N., Abbas, N.H., Yao, K., Koenig, S., Allué-Guardia, A., Eppinger, M. (2019). Genomic features of colistin resistant *Escherichia coli* ST69 strain harboring mcr-1 on IncHI2 plasmid from raw milk cheese in Egypt. *Infection, Genetics and Evolution*, 73, 126–131.
- Hamouda, A., Outtas, S. (2011). Etude topologique et diachronique de l’habitat rural, cas d’El-Kantara. Biskra. *Science & Technology, D Science de la terre*, 34, 28–37.
- Hamza, N., Berke, B., Umar, A., Cheze, C., Gin, H., Moore, N. (2019). A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 238, 112.

- Hartantyo, S.H.P., Chau, M.L., Koh, T.H., Yap, M., Yi, T., Cao, D.Y.H., Gutiérrez, R.A., Ng, L.C. (2020). Foodborne *Klebsiella pneumoniae* : Virulence potential, antibiotic resistance, and risks to food safety. *Journal of Food Protection*, 83(7), 1096–1103.
- Hatem, N., Wakim, L. H., Nemer, N., Baydoun, S. and Arnold Apostolides, N. (2018). Chemical composition and antimicrobial activity of *Verbascum caesareum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 52(1), 125–126.
- Havkin-Frenkel, D., Dudai, N. (2016). *Biotechnology in Flavor Production* (2 ed.). UK: Wiley Blackwell.
- Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., Sticher, O. (1998). Medicinal plants in Mexico: Healers' consensus and cultural importance. *Social Science & Medecine*, 47 (11), 1859–1871.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E.M. (2004). *Fundamental pharmacognosy phytotherapy*. London: Churchill Livingstone.
- Houéhanou, D., Assogbadjo, A., Chadare, F., Zanzo, S., Sinsin, B. (2016). Approches méthodologiques synthétisées des études d'ethnobotanique quantitative en milieu tropical. *Annales des Science Agronomique du Bénin*, 20, 187–205.
- Hrckova, G., Velebny, S. (2013). *Pharmacological Potential of Selected Natural Compounds in the Control of Parasitic Diseases*. London: Springer-Verlag Wien.
- Husan, O., Çadirici, Ö. (2019). Determination of extended spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae* from cheese samples sold in public bazaars. *Journal of Food Safety*, 39(5), 1–6.
- Hyltdgaard, M., Mygind, T., Meyer, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 1–24.
- Idm'hand, E., Msanda, F., Cherifi, K. (2020). Ethnobotanical study and biodiversity of medicinal plants used in the Tarfaya Province, Morocco. *Acta Ecologica Sinica*, 40, 134–144.
- Idm'hand, E., Msanda, F., Cherifi, K. (2020). Ethnobotanical study and biodiversity of medicinal plants used in the Tarfaya Province, Morocco. *Acta Ecologica Sinica*, 40(2), 134–144.
- IUCN, (2005). *A Guide to Medicinal Plants in North Africa*. Malaga, Spain: IUCN Centre for Mediterranean Cooperation.
- Jacoby, G.A., Munoz-Price L.S. (2005). The new β -lactamases. *New England Journal of Medicine*, 352, 380–91.

- Jacoby, G.A., Sutton, L. (1991). Properties of plasmids responsible for production of extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35(1), 164–169.
- Jäger, A. K., Gauguin, B., Adersen, A., Gudiksen, L. (2006). Screening of plants used in Danish folk medicine to treat epilepsy and convulsions. *Journal of Ethnopharmacology*, 105(1–2), 294–300.
- Jamila, F., Mostafa, E. (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(1), 76–87.
- Japoni, A., Alborzi, A., Kalani, M., Nasiri, J., Hayati, M., Farshad, S. (2006). Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in the South of Iran. *Burns*, 32(3), 343–347.
- Jayari, A., El Abed, N., Jouini, A., Mohammed Saed Abdul-Wahab, O., Maaroufi, A., Ben Hadj Ahmed, S. (2018). Antibacterial activity of *Thymus capitatus* and *Thymus algeriensis* essential oils against four food-borne pathogens inoculated in minced beef meat. *Journal of Food Safety*, 38, 1–10.
- Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., Brulé, G. (2016). *Handbook of Food Science and Technology 3: Food Biochemistry and Technology*, Vol. 3. John Wiley & Sons.
- Jena, J., Debata, N.K., Sahoo, R.K., Gaur, M., Subudhi, E. (2018). Molecular characterization of extended spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* strains isolated from a tertiary care hospital. *Microbial Pathogenesis*, 115, 112–116.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Denkova, Z., Stoyanova, A., Murgov, I., Schmidt, E. and Geissler, M. (2005). Antimicrobial testings and gas chromatographic analysis of pure oxygenated monoterpenes 1,8-cineole, α -terpineol, terpinen-4-ol and camphor as well as target compounds in essential oils of pine (*Pinus pinaster*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), tea tree. *Scientia Pharmaceutica*, 73, 27–38.
- Jones, M. (2011). *The Complete Guide to Creating Oils, Soaps, Creams, and Herbal Gels for your Mind and Body*. Atlantic Publishing Company.
- Jordán, M.J., Lax, V., Rota, M.C., Lorán, S. and Sotomayor, J.A. (2013). Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control*, 30, 463–468.
- Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., El Hilaly, J., Eddouks, M. (2001). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre

- region of Morocco (Fez-Boulemane). *Journal of Ethnopharmacology*, 77, 175–182.
- Ju, J., Chen, X., Xie, Y., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H. and Yao, W. (2019). Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 92, 22–32.
- Kaesbohrer, A., Bakran-Lebl, K., Irrgang, A., Fischer, J., Kämpf, P., Schiffmann, A., Werckenthin, C., Busch, M., Kreienbrock, L., Hille, K. (2019). Diversity in prevalence and characteristics of ESBL/pAmpC producing *E. coli* in food in Germany. *Veterinary Microbiology*, 233, 52–60.
- Kahlmeter, G. (2014). Defining antibiotic resistance—towards international harmonization. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 119, 78 – 86.
- Kalembe, D., Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10 (10), 813–829.
- Kao, C.Y., Chen, C.A., Liu, Y.F., Wu, H.M., Chiou, C.S., Yan, J.J., Wu, J.J. (2015). Molecular characterization of antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates: first identification of a plasmid carrying qnrD or oqxAB in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*.
- Kao, C.Y., Chen, C.A., Liu, Y.F., Wu, H.M., Chiou, C.S., Yan, J.J., Wu, J.J. (2017). Molecular characterization of antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates : First identification of a plasmid carrying qnrD or oqxAB in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 50(2), 214–223.
- Karousou, R., Balta, M., Hanlidou, E., Kokkini, S. (2007). “Mints”, smells and traditional uses in Thessaloniki (Greece) and other Mediterranean countries. *Journal of Ethnopharmacology*, 109(2), 248–257.
- Kathe, W. (2006). Revision of the guidelines on the conservation of medicinal plants by WHO, IUCN, WWF and TRAFFIC. In: Bogers, R.J, Craker, L.E, Lange, D. (Eds). *Medicinal and aromatic plants. Agricultural, commercial, ecological, legal, pharmacological and social aspects*. Dordrecht: Springer. Pp 109–120.
- Kimura, M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16(2), 111–120.

- Kornacki, J. (2001). *Enterobacteriaceae*, coliforms and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 69–82.
- Kotan, R., Kordali, S. and Cakir, A. (2007). Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes. *Zeitschrift fur Naturforsch*, 62, 507–513.
- Kpadonou Kpoviessi, B.G.H., Yayi Ladekan, E., Kpoviessi, D.S.S., Gbaguidi, F., Yehouenou, B., Quetin-Leclercq, J., Figueredo, G., Moudachirou, M., Accrombessi, G.C. (2012). Chemical variation of essential oil constituents of *Ocimum gratissimum* L. from Benin, and impact on antimicrobial properties and toxicity against *Artemia salina* LEACH. *Chemistry & Biodiversity*, 9 (1), 139–150.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549.
- Ladhari, A., Omezzine, F., DellaGreca, M., Zarrelli, A., Zuppolini, S., Haouala, R. (2013). Phytotoxic activity of *Cleome arabica* L. and its principal discovered active compounds. *South African Journal of Botany*, 88, 341–351.
- Lakehal, S., Meliani, A., Benmimoune, S., Bensouna, S.N., Benrebiha, F.Z., Chaouia, C. (2016). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria. *Medicinal Chemistry*, 6, 435–439.
- Lapointe-Vignola, C., F.d.t.l.d.Q. (2002). *Science et technologie du lait : transformation du lait*. Québec: Presses Inter Polytechnique.
- Larrazabal-Fuentes, M., Palma, J., Paredes, A., Mercado, A., Neira, I., Lizama, C., Sepulveda, B. and Bravo, J. (2019). Chemical composition, antioxidant capacity, toxicity and antibacterial activity of the essential oils from *Acantholippia deserticola* (Phil.) Moldenke (*Rica rica*) and *Artemisia copa* Phil. (*Copa copa*) extracted by microwave-assisted hydrodistillation. *Industrial Crops and Products*, 142, 111830.
- Lásztity, R. (2009). *Food quality and standards*, Vol. 2. EOLSS Publications.
- Lee, S.Y., Gwon, S.Y., Kim, S.J., Moon, B.K. (2009). Inhibitory Effect of Commercial Green Tea and Rosemary Leaf Powders on the Growth of Foodborne Pathogens in Laboratory Media and Oriental-Style Rice Cakes. *Journal of Food Protection*, 72, 1107–1111.
- Li, Y., Fabiano-Tixier, A.S., Chemat, F. (2014). *Essential oils as reagents in green chemistry*. Cham: Springer International Publishing.

- Liakopoulos, A., Mevius, D., Ceccarelli, D. (2016). A Review of SHV Extended-Spectrum β -lactamases: Neglected Yet Ubiquitous. *Frontiers in microbiology*, 7, 1374.
- Lichtfouse, E. (2009). *Sustainable Agriculture Reviews: Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms*. Dijon: Springer.
- Lichtfouse, E. (2016). *Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Lim, T. K. (2016). Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants.*, 10, 1–659.
- Livermore, D.M., Brown, D.F. (2001). Detection of β -lactamase mediated resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, 59–64.
- Livermore, D.M., Paterson, D.L. (2006). *Pocket guide to extended spectrum β -lactamases in resistance*. Spain: Current Medicine Group Ltd.
- Long, S.S., Pickering, L.K., Prober, C.G. (2012). *Principles and practice of pediatric infectious diseases* (4 ed.). Elsevier Inc.
- Loucif, L., Gacemi-kirane, D., Cherak, Z., Chamlal, N., Grainat, N., Rolain, J. (2016b). First Report of German Cockroaches (*Blattella germanica*) as Reservoirs of CTX-M-15 Extended-Spectrum--Lactamase- and OXA-48 Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Batna University Hospital, Algeria *Antimicrobial. Agents and Chemotherapy*, 60(10), 6377–6380.
- Loucif, L., Kassah-Laouar, A., Saidi, M., Messala, A., Chelaghma, W., Rolain, J.M. (2016a). Outbreak of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* involving a sequence type 101 clone in Batna University Hospital, Algeria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(12), 7494–7497.
- Lucchesi, M.E. (2005). *Extraction sans solvant assistée par microondes : Conception et application à l'extraction des huiles essentielles* ». Thèse de Doctorat en sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion.
- Mahaut, M., Jeantet, R., Schuck, P., Brule, G. (2000). *Les produits industriels laitiers*. Paris, TEC & DOC, Lavoisier.
- Mahomoodally, M.F. (2013). Traditional medicines in Africa: An appraisal of ten potent African medicinal plants. *Evidence-based Complement. Alternative Medecine*, 1–14.
- Mahomoodally, M.F., Gurib-Fakim, A. (2013). *Harnessing Traditional Knowledge to Treat Existing and Emerging Infectious Diseases in Africa*. In: Rai, M., Kon, K. (Eds). *Fighting*

Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components. London: Academic Press. Pp 223–235.

Marc, E. B., Nelly, A., Annick, D. D., Frederic, D. (2008). Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(3), 315–334.

Marchesi, J.R., Sato, T., Weightman, A.J., Martin, T.A., Fry, J.C., Hiom, S.J., Wade, W.G. (1998). Design and evaluation of useful bacterium specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 795–799.

Martin, G.J. (1995). *Ethnobotany A Methods Manual*. London: Chapman Hall.

Martin, I. (2007). *Aromatherapy for massage practitioners*. Lippincott Williams & Wilkins.

Martin, R.M., Cao, J., Brisse, S., Passet, V., Wu, W., Zhao, L., Malani, P. N., Rao, K., Bachman, M. A. (2016). Molecular Epidemiology of Colonizing and Infecting Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *MSphere*, 1(5), 1–12.

Marx, J.L. (1989). *A revolution in biotechnology*. Cambridge Univ. Press.

Massova, I., Mobashery, S. (1998). Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42, 1–17.

Meddour, R., Meddour, O., Derridj, A. (2011). Medicinal plants and their traditional uses in Kabylia (Algeria): an ethnobotanical survey. *Planta Medica*, 77(12).

Meletis, G., Oustas, E., Botziori, C., Kakasi, E., Koteli, A. (2015). Containment of carbapenem resistance rates of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* in a Greek hospital with a concomitant increase in colistin, gentamicin and tigecycline resistance. *New Microbiologia*, 38, 417–421.

Merzouki, A., Ed-derfoufi, F., Molero Mesa, J. (2000). Contribution to the knowledge of Rifian traditional medicine. II: Folk medicine in Ksar Lakbir district (NW Morocco). *Fitoterapia*, 71(3), 278–307.

Miara, M.D., Bendif, H., Ait Hammou, M., Teixidor-Toneu, I. (2018). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by nomadic peoples in the Algerian steppe. *Journal of Ethnopharmacology*, 219, 248–256.

Miara, M.D., Bendif, H., Rebbas, K., Rabah, B., Hammou, M.A., Maggi, F. (2019a). Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria) *Journal of Herbal Medicine*, 100–262.

- Miara, M.D., Teixidor-Toneu, I., Sahnoun, T., Bendif, H., Ait Hammou, M. (2019b). Herbal remedies and traditional knowledge of the Tuareg community in the region of Illizi (Algerian Sahara). *Journal of Arid Environ*, 167, 65–73.
- Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrou, A., Najjaa, H., Neffati, M. (2010). Comptes Rendus Chimie Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes rendus – Chimie*, 13, 380–386.
- Milpied, H. (2009). *Progres en dermato-allergologie : Bordeaux 2009*. John Libbey Eurotext.
- Mohamed, A.E.H.H., El-Sayed, M.A., Hegazy, M.E., Helaly, S.E., Esmail, A.M., Mohamed, N.S. (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of Natural Products*, 4, 1–25.
- Montanari, R.M., Barbosa, L.C.A., Demuner, A.J., Silva, C.J., Carvalho, L.S. and Andrade, N.J. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Verbenaceae* species: Alternative sources of (E)-Caryophyllene and germacrene-D. *Química Nova*, 34, 1550–1555.
- Moss, R.B., McClelland, E., Williams, R.R., Hilman, B.C., Rubio, T., Adkinson, N.F. (1991). Evaluation of the immunologic cross-reactivity of aztreonam in patients with cystic fibrosis who are allergic to penicillin and/or cephalosporin antibiotics. *Reviews of infectious diseases*, 13, S598–S607.
- Murad, W., Azizullah, A., Adnan, M., Tariq, A., Khan, K. U., Waheed, S., Ahmad, A. (2013). Ethnobotanical assessment of plant resources of Banda Daud Shah, District Karak, Pakistan. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9(1), 77.
- Naas, T., Nordmann, P. (1999). OXA-type β -lactamases. *Current pharmaceutical design*, 5, 865–879.
- Naila, S., Ibrar, M. (2018). Pharmacological studies of oxalis pes-caprae L. *Pharmacognosy Journal*, 10(4), 705–711.
- Najjaa, H., Arfa, A. Ben, Máthé, Á., Neffati, M. (2017). *Aromatic and Medicinal Plants of Tunisian Arid and Desert Zone Used in Traditional Medicine, for Drug Discovery and Biotechnological Applications*. Springer, Dordrecht, 3, 157–230.
- Najjaa, H., Ben Arfa, A., Máthé, A., Neffati, M. (2017). Aromatic and Medicinal plants of Tunisian Arid and desertic zone used in Traditional Medicine for Drug Discovery and

biotechnological applications. In: Neffati, M., Najjaa, H., Mathe, A. (Eds). Medicinal and Aromatic Plants of the World-Africa Vol. 3. Dordrecht: Springer. Pp. 157–230.

Nawash, O., Shudiefat, M., Al-Tabini, R., Al-Khalidi, K. (2013). Ethnobotanical study of medicinal plants commonly used by local bedouins in the badia region of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 921–925.

Neffati, M., Najjaa, H., Mathe, A. (2017). Medicinal and aromatic plants of the World-Africa, Vol. 3. Dordrecht: Springer.

Nikolic, M., Glamoclija, J., Ferreira, I. C. F. R., Calhelha, R. C., Fernandes, A., Markovic, T., Markovic, D., Giweli, A., Sokovic, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. . *Industrial Crops and Products*, 52, 183–190.

Nollet, L.M.L., Toldrá, F. (2009). *Handbook of Food Analysis*. New York: Boca Raton: CRC Press.

Nordmann, P., Naas. T. (1994). Sequence analysis of PER-1 extended spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* and comparison with class A β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 38, 104–114.

Nordmann, P., Poirel, L. (2002). Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clinical microbiology and infection*, 8, 321–331.

Nychas, G.E., Tassou, C.C. (2014). Traditional preservatives—oils and spices. In: Batt, C.A., Tortorello, M. L. (Eds.). *Encyclopedia of Food Microbiology*. London: Academic Press. Pp. 1717–1722.

Odenthal, S., Akineden, Ö. and Usleber, E. (2016). Extended-spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae* in bulk tank milk from German dairy farms. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 72–78.

Odugbemi, T.O. (2008) *Outlines and pictures of medicinal plants from Nigeria*, Nigeria: University of Lagos Press.

Ohnishi, M., Okatani, A. T., Esaki, H., Harada, K., Sawada, T., Murakami, M., Marumo, K., Kato, Y., Sato, R., Shimura, K., Hatanaka, N., Takahashi, T. (2013). Herd prevalence of *Enterobacteriaceae* producing CTX-M-type and CMY-2 β -lactamases among Japanese dairy farms. *Journal of Applied Microbiology*, 115(1), 282–289.

- Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. and Altundag, S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. Food Chemistry, 112, 874–879.
- Olivier, S.P., Jayarao, B.M. and Almeida, R.A. (2005). Foodborne Pathogens in Milk and the Dairy Farm Environment: Food Safety and Public Health Implications. Foodborne Pathogens and Disease, 2, 115–137.
- Olmedo, R.H., Nepote, V. and Grosso, N.R. (2013). Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. LWT - Food Science and Technology, 53, 409–417.
- Ombarak, R.A., Hinenoya, A., Awasthi, S.P., Iguchi, A., Shima, A., Elbagory, A.R.M., Yamasaki, S. (2016). Prevalence and pathogenic potential of *Escherichia coli* isolates from raw milk and raw milk cheese in Egypt. International Journal of Food Microbiology, 221, 69–76.
- Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, Collection FAO : Alimentation et nutrition.
- Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (2008). Codex alimentarius : production animale, Collection FAO: Alimentation et nutrition.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2013). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Organisation Mondiale de la Santé.
- Ouakouak, H., Chohra, M., Denane, M. (2015). Chemical Composition, Antioxidant Activities of the Essential Oil of *Mentha pulegium* L, South East of Algeria. International Letters of Natural Science, 39, 49–55.
- Ouariachi, E. mokhtar El, Hamdani, I., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Majidi, L., Costa, J., Paolini, J., Chetouani, A. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 4, 281–286.
- Ouariachi, E. mokhtar El, Hamdani, I., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Majidi, L., Costa, J., Paolini, J. and Chetouani, A. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 4, 281–286.
- Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T.N., Khelifi, D. (2016). Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). Journal of Ethnopharmacology, 194, 196–218.

- Ould El Hadj, M. D., Hadj-Mahammed, M., Zabeirou, H. (2003). Place Des Plantes Spontanees Dans La Medicine Traditionnelle De La Region De Ouargla (Sahara Septentrional Est). *Courrier Du Savoir.*, 3, 47–51.
- Ozenda, P. (1958). Flore du Sahara septentrional et centra. Paris : CNRS.
- Ozenda, P. (1991). Flore et végétation du Sahara. Paris : CNRS.
- Pandey, N., Cascella, M. (2019). Beta Lactam Antibiotics. StatPearls Publishing.
- Parajuli, N.P., Maharjan, P., Parajuli, H., Joshi, G., Paudel, D., Sayami, S., Khanal, P.R. (2017). High rates of multidrug resistance among uropathogenic *Escherichia coli* in children and analyses of ESBL producers from Nepal. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 6(1), 1–7.
- Parussolo, L., Sfaciotte, R.A.P., Dalmina, K.A., Melo, F.D., Da Costa, U.M. and Ferraz, S.M. (2019). Detection of virulence genes and antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* isolates from raw milk and artisanal cheese in Southern Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 40, 163–178.
- Parvin, M., Hasan, M., Ali, M., Chowdhury, E.H., Rahman, M., Islam, M. (2020). Prevalence and Multidrug Resistance Pattern of *Salmonella* Carrying Extended-Spectrum β -Lactamase in Frozen Chicken Meat in Bangladesh Multidrug resistant *Salmonella* in frozen chicken meat. *Journal of Food Protection*.
- Paterson, D.L., Bonomo, R.A. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18, 657–686.
- Peymani, A., Naserpour-Farivar, T., Zare, E., Azarhoosh, K. (2017). Distribution of *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, and *bla*_{CTX-M} genes among ESBL-producing *P. aeruginosa* isolated from Qazvin and Tehran hospitals, Iran. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 58(2), E155–E160.
- Philippon, A., Arlet, G., Jacoby, G. A. (2002). Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46, 1–11.
- Phillips, O., Gentry, A.H. (1993). The useful plants of Tambopata, Peru. *Economic Botany*, 47 (1), 15–32.
- Phutdhawong, W., Kawaree, R., Sanjaiya, S., Sengpracha, W., Buddhasukh, D. (2007). Microwave-assisted isolation of essential oil of *Cinnamomum iners* Reinw. ex Bl.: comparison with conventional hydrodistillation. *Molecules*, 12, 868–877.

- Pieroni, A., Quave, C. L. (2005). Traditional pharmacopoeias and medicines among Albanians and Italians in southern Italy: A comparison. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1–3), 258–270.
- Pimentel, R.B.Q., Souza, D.P., Albuquerque, P.M., Fernandes, A. V., Santos, A.S., Duvoisin, S. and Gonçalves, J.F.C. (2018). Variability and antifungal activity of volatile compounds from *Aniba rosaeodora* Ducke, harvested from Central Amazonia in two different seasons. *Industrial Crops and Products*, 123, 1–9.
- Pitman, V. (2004). *Aromatherapy: A Practical Approach*. Nelson Thornes.
- Polat, R., Satil, F. (2012). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balıkesir - Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 139(2), 626–641.
- Ponce, A., Fritz, R., Del Valle, C., Roura, S. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 36, 679–684.
- Preedy, V.R. (2009). *Beer in health and disease prevention*. London: Academic Press.
- Proksch, P. (2002). *Artemisia herba-alba*. In: Wright, C. W. (Ed.). *Artemisia*. London: Taylor & Francis. Pp. 99–105.
- Qasim, M., Zainul, A., Muhammad, Y.A., Raziuddin, A., Bilquees G., Khan, M.A. (2014). Traditional ethno-botanical uses of medicinal plants from coastal areas of Pakistan. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(1), 22–30.
- Qnais, E.Y., Alatshan, A.Z., Bseiso, Y.G. (2016). Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Artemisia herba-alba* essential oil. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 14, 20–7.
- Quinlan, M. (2005). Considerations for Collecting Freelists in the Field: Examples from Ethobotany. *Field methods*; 17 (3), 219–234.
- Rahman, M. Mizanur, Sultana, T., Yousuf Ali, M., Rahman, M. Masidur, Al-Reza, S.M. and Rahman, A. (2017). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and various extracts from *Cassia sophera* L. against *Bacillus* sp. from soil. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2132–S2137.
- Rai, M., Kon, K. (2013). *Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components*. London: Academic Press.
- Ranjan, S., Dasgupta, N., Lichtfouse, E. (2017). *Nanoscience in food and agriculture 4. Sustainable Agriculture Reviews*. Switzerland: Springer.

- Rawat, D., Nair, D. (2010). Extended-spectrum β -lactamases in gram negative bacteria. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2, 263–274.
- Rebbas, K., Bounar, R., Gharzouli, R., Ramdani, M., Djellouli, Y., Alatou, D. (2012). Plantes d'intérêt médicinal et écologique dans la région d'Ouanougha (M'Sila, Algérie). *Phytotherapie*, 10(2), 131–142.
- Rezai, M.S., Salehifar, E., Rafiei, A., Langae, T., Rafati, M., Shafahi, K., Eslami, G. (2015). Characterization of Multidrug Resistant Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* among Uropathogens of Pediatrics in North of Iran. *BioMed Research International*, 2015, ID 309478.
- Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., Guido, F., Kiliçarslan, Ö., Mammadov, R. and Bardaweel, S.K. (2019). Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19, 1–10.
- Ricard, M.H. (2013). *Se soigner avec les huiles essentielles*. E.D.M Edition.
- Robertovna, G. E., Alexeevich, K. D., Alexeevich, S. A., Petrovna, G. M., Kenzhebaevna, O. K. (2019). A Traditional Medicine Plant, *Onopordum acanthium* L. (*Asteraceae*) : Chemical Composition and Pharmacological Research. *Plants*, 8(2), 40.
- Rodriguez-Villalobos, H, Struelens, M.J. (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation*, 15, 205–13.
- Rossato, S.C., Leitão-Filho, H.D.F, Begossi, A. (1999). Ethnobotany of Caicaras of the Atlantic Forest coast (Brazil). *Economic Botany*, 53 (4), 387–395.
- Rossolini, G.M., Franceschini, N., Lauretti, L., Caravelli, B. Riccio, M.L., Galleni, M., Frère, J.M., Amicosante, G. (1999). Cloning of a *Chryseobacterium* (*Flavobacterium*) *menigiosepticum* chromosomal gene (*bla*_{ACME}) encoding an extended-spectrum class A β -lactamase related to the *Bacteroides* cephalosporinases and the VEB-1 and PER β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 43, 2193–2199.
- Saini, V., McClure, J.T., Léger, D., Dufour, S., Sheldon, A.G., Scholl, D.T. and Barkema, H.W. (2012). Antimicrobial use on Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 95, 1209–1221.
- Saitou, N., Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425.

- Saladin, M., V. T. Cao, T. Lambert, J. L. Donay, J. L. Herrmann, Z. Ould-Hocine, C. Verdet, F. Delisle, A. Philippon, and G. Arlet. 2002. Diversity of CTX-M β -lactamases and their promoter regions from *Enterobacteriaceae* isolated in three Parisian hospitals. *FEMS Microbiology Letters*, 209,161–168.
- Salah, S.M., Jager, A.K. (2005). Two flavonoids from *Artemisia herba-alba* Asso with *in vitro* GABAA-benzodiazepine receptor activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 145–146.
- Salvador, A., Chisver, A. (2007). *Analysis of Cosmetic Products*. Amsterdam: Elsevier.
- Samet-Bali, O., Bellila, A., Ayadi, M.A., Marzouk, B., Attia, H. (2010). A comparison of the physicochemical, microbiological and aromatic composition of Traditional and Industrial Leben in Tunisia. *International journal of dairy technology*, 63, 98–104.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. (1977). DNA sequencing by chain terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74, 5463–5467. In: Simons, R.W. (Ed). *Naturally occurring antisense RNA control: a brief review*. *Gene*. Pp. 72, 35–44.
- Sarhir, S.T., Amanpour, A., Bouseta, A., Selli, S. (2019). Key odorants of a Moroccan fermented milk product “Lben” using aroma extract dilution analysis, *Journal of food science and technology*, 56, 3836–3845.
- Sayout, A., Ouarhach, A., Dilagui, I., Soraa, N. and Romane, A. (2020). Antibacterial activity and chemical composition of essential oil from *Lavandula tenuisecta* Coss.ex Ball. an endemic species from Morocco. *European Journal of Integrative Medicine*, 33, 101017.
- Sedira, S., Mazouz, S. (2018). Effect of urban morphology on thermal comfort in outdoor spaces : the case of the red. *Journal of Applied Engineering Science & Technology*, 4, 53–59.
- Selim, S., (2011). Antimicrobial activity of essential oils against vancomycin-resistant enterococci (vre) and *Escherichia coli* o157:h7 in feta soft cheese and minced beef meat. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 187–196.
- Sfeir, J., Lefrançois, C., Baudoux, D., Derbré, S. and Licznar, P. (2013). *In vitro* antibacterial activity of essential oils against *Streptococcus pyogenes*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, ID 269161.
- Sharma, J., Sharma, M. and Ray, P. (2010). Detection of TEM & SHV genes in *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* isolates in a tertiary care hospital from India. *Indian Journal of Medical Research*, 132, 332–336.

- Sidjabat, H.E., Paterson, D.L., Adams-Haduch, J.M., Ewan, L., Pasculle, A.W., Muto, C.A., Tian, G.B., Doi, Y. (2009). Molecular epidemiology of CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates at a tertiary medical center in Western Pennsylvania. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(11), 4733–4739.
- Silva, J., Aguilar, C., Ayala, G., Estrada, M.A, Garza-Ramos, U., LaraLemus, R., Ledezma, L. (2000). TLA-1: a new plasmid-mediated extended spectrum β -lactamase from *Escherichia coli*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44, 997–1003.
- Skockova, A., Bogdanovicova, K., Kolackova, I., Karpiskova, R. (2015). Comparing Real-Time and Conventional PCR to Culture -Based Methods for Detecting and Quantifying *Escherichia coli* 0157 in Cattle Feces. *Journal of Food Protection*, 77(2), 314–319.
- Sosa, S., Altinier, G., Politi, M., Braca, A., Morelli, I., Della Loggia, R. (2005). Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*, 12(4), 271–277.
- Sougakoff, W., Goussard, S., Courvalin, P. (1988). The TEM-3 β -lactamase, which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM-2 penicillinase by two amino acid substitutions. *FEMS Microbiology Letters*, 56, 343–348.
- Spreer, E. (1998). *Milk and dairy product technology*. New York: Marcel Dekker INC.
- Srivastava, J., Lambert, J., Vietmeyer, N. (1996). *Medicinal Plants: An Expanding Role in Development*. Washington: The World Bank.
- Steele, J.L., Unlu, G. (1992). Impact of lactic acid bacteria on cheese flavor development. *Food Technology*, 46, 128–136.
- Straley, B.A., Donaldson, S.C., Hedge, N.V., Sawant, A.A., Srinivasan, V., Oliver, S.P., Jayarao, B.M. (2006). Public health significance of antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria in raw bulk tank milk. *Foodborne Pathogens and Disease*, 3(3), 222–233.
- Sudarwanto, M., Akineden, Ö., Odenthal, S., Gross, M., Usleber, E. (2015). Extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* in bulk tank milk from dairy farms in Indonesia. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(7), 585–590.
- Sun, Q.L., Gu, D., Wang, Q., Hu, Y., Shu, L., Hu, J., Zhang, R., Chen, G.X. (2019). Dynamic colonization of *Klebsiella pneumoniae* isolates in gastrointestinal tract of intensive care patients. *Frontiers in Microbiology*, 10(FEB), 1–9.

- Tafoukt, R., Touati, A., Leangapichart, T., Bakour, S., Rolain, J.M. (2017). Characterization of OXA-48-like-producing *Enterobacteriaceae* isolated from river water in Algeria. *Water Research*, 120, 185–189.
- Tahar, S., Nabil, M. M., Safia, T., Ngaiganam, E. P., Omar, A., Hafidha, C., Hanane, Z., Rolain, J.-M., Diene, S. M. (2020). Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Milk of Dairy Cows with Clinical Mastitis in Algeria. *Journal of Food Protection*, 83(12), 2173–2178.
- Tajkarimi, M., Ibrahim, S. (2012). Phytochemicals as antimicrobial food preservatives. In: Patra, A.K. (Ed.). *Dietary Phytochemicals and Microbes*. Dordrecht: Springer. Pp. 207–235.
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K. (1999). *Yoghurt Science and Technology* (2 ed.). Cambridge: Woodhead Publishing.
- Tantaoui-Elaraki, A., Berrada, M., El Marrakchi, A., Berramou, A. (1983). Etude sur le Lben marocain. *Le lait*, 63, 230–245.
- Tantaoui-Elaraki, A., El Marrakchi, A. (1987). Study of the Moroccan dairy products: lben and smen. *Mircen journal of applied microbiology and biotechnology*, 3, 211–220.
- Tark, D.S., Moon, D.C., Kang, H.Y., Kim, S.R., Nam, H.M., Lee, H.S., Jung, S.C., Lim, S. K. (2017). Antimicrobial susceptibility and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitic milk in South Korea from 2012 to 2015. *Journal of Dairy Science*, 100(5), 3463–3469.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Saraiva, J.A., Nunes, M.L. (2012). European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Industrial Crops Prod*, 36, 81–87.
- Tekiner, İ.H., Özpınar, H. (2016). Occurrence and characteristics of extended spectrum beta-lactamases-producing *Enterobacteriaceae* from foods of animal origin. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2), 444–451.
- Tepeli, S.Ö., Demirel Zorba, N.N. (2018). Frequency of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)– and AmpC β -lactamase–producing *Enterobacteriaceae* in a cheese production process. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 2906–2914.
- Thibault, C., Levasseur, M.C. (2001). *La Reproduction chez les Mammifères et l’Homme*. Paris : Ellipse, Institut National pour la Recherche Agronomique.

- Thormar, H. (2011). *Lipids and essential oils as antimicrobial agents*. West Sussex : John Wiley & Sons.
- Tourette, I. (2002). *Filières laitières en Afrique et points critiques pour la maîtrise des dangers sanitaires des laits et produits laitiers. Synthèse bibliographique du DESS-PARC*. Montpellier : CIRAD-EMVT et Université Montpellier II.
- Trindade, H., Pedro, L.G., Figueiredo, A.C. Barroso, J.G. (2018). Chemotypes and terpene synthase genes in *Thymus* genus: State of the art. *Industrial Crops and Products*, 124, 530–547.
- Trotter, R.T., Logan, M.H. (1986). Informant consensus: a new approach for identifying potentially effective medicinal plants. *New York: Bedford Hill*, 91–112.
- Turner, S., Pryer, K.M., Miao, V.P.W., Palmer, J.D. (1999). Investigating deep phylogenetic relationships among Cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 46(4), 327–338.
- Ullah, S., Rashid Khan, M., Ali Shah, N., Afzal Shah, S., Majid, M., Asad Farooq, M. (2014). Ethnomedicinal plant use value in the Lakki Marwat District of Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 158, 412–422.
- Vasconcelos Silva, M.G., Craveiro, A.A., Abreu Matos, F.J., Machado, M.I.L., Alencar, J.W. (1999). Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. *Fitoterapia*, 70, 32–34.
- Vásquez-Jaramillo, L., Ramírez, N.F., Akineden, Ö., Fernández-Silva, J.A. (2017). Presence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* in bulk-tank milk of bovine dairy farms in Antioquia, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 30(2), 85–100.
- Vinagre, C., Vinagre, S., Carrilho, E. (2019). The use of medicinal plants by the population from the Protected Landscape of “serra de Montejunto”, Portugal. *Journal Ethnobiology and Ethnomedicine* 15, 1–30.
- Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J., Kowalska, T. (2008). *Thin layer chromatography in phytochemistry*. CRC Press.
- Walters, K.A., Roberts, M.S. (2007). *Dermatologic, Cosmeceutic, and Cosmetic Development: Therapeutic and Novel Approaches*. CRC Press.
- Wilson, R. (2002). *Aromatherapy: Essential Oils for Vibrant Health and Beauty*, New York: Avery.

- Worwood, V.A. (2001). *Aromatherapy for the beauty therapist* (1 ed.). Cengage Learning.
- Yaici, L., Haenni, M., Métayer, V., Saras, E., Mesbah Zekar, F., Ayad, M., Touati, A., Madec, J.Y. (2017). Spread of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the community through ready-to-eat sandwiches in Algeria. *International Journal of Food Microbiology*, 245, 66–72.
- Yaici, L., Haenni, M., Saras, E., Boudehouche, W., Touati, A., Madec, J. Y. (2016). blaNDM-5-carrying IncX3 plasmid in *Escherichia coli* ST1284 isolated from raw milk collected in a dairy farm in Algeria. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(9), 2671–2672.
- Yang, S.C., Lin, C.H., Aljuffali, I.A., Fang, J.Y. (2017). Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology*, 199(6), 811–825.
- Yaseen, G., Ahmad, M., Potter, D., Zafar, M., Sultana, S., Mir, S. (2018). Ethnobotany of medicinal plants for livelihood and community health in deserts of Sindh-Pakistan. In : M. Ozturk, K. R. Hakeem (Eds). *Plant and Human Health Vol. 1*. Cham : Springer. Pp. 767–792.
- Yaseen, G., Ahmad, M., Shinwari, S., Potter, D., Zafar, M., Zhang, G., Shinwari, Z.K., Sultana, S. (2019). Medicinal plant diversity used for livelihood of public health in deserts and arid regions of sindh-pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 51, 657–679.
- Yaseen, G., Ahmad, M., Sultana, S., Suleiman Alharrasi, A., Hussain, J., Zafar, M., Shafiq-Ur-Rehman (2015). Ethnobotany of medicinal plants in the Thar Desert (Sindh) of Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 163, 43–59.
- Yazdansetad, S., Alkudhairy, M.K., Najafpour, R., Farajtabrizi, E., Al-Mosawi, R.M., Saki, M., Jafarzadeh, E., Izadpour, F. and Ameri, A. (2019). Preliminary survey of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in nosocomial uropathogen *Klebsiella pneumoniae* in north-central Iran. *Heliyon*, 5, e02349.
- Ye, Q., Wu, Q., Zhang, S., Zhang, J., Yang, G., Wang, J., Xue, L., Chen, M. (2018). Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from retail food in China. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1–12.
- Yesilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Goto, K., Ikeshiro, Y. (1993). Traditional Medicine in Turkey .4. Folk Medicine in the Mediterranean Subdivision. *Journal of Ethnopharmacology*, 39, 31–38.

- Yilma, Z., Faye, B., Loiseau, G. (2007). Occurrence and distribution of species of *Enterobacteriaceae* in selected Ethiopian traditional dairy products : A contribution to epidemiology. *Food Control*, 18(11), 1397–1404.
- Younsi, F., Rahali, N., Mehdi, S., Boussaid, M. and Messaoud, C. (2018). Relationship between chemotypic and genetic diversity of natural populations of *Artemisia herba-alba* Asso growing wild in Tunisia. *Phytochemistry*, 148, 48–56.
- 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, 1425–1438.
- Zagorec, M., Christeans, S. (2013). *Flores protectrices pour la conservation des aliments*. Editions Quae, Versailles Cedex.
- Zervosen, A., Sauvage, E., Frere, J.M., Charlier, P., Luxen, A. (2012). Development of new drugs for an old target: the penicillin binding proteins. *Molecules*, 17, 12478–12505.

Annexes

Annexe 1

Questionnaire sur les plantes médicinales spontanées

Date :

Région :

Numéro de questionnaire :

Informateur :

▪ **Age :**

▪ **Profession :**

▪ **Sexe :** Masculin Féminin

▪ **Niveau académique :** analphabète Primaire Secondaire Universitaire

▪ **Situation familiale :** Célibataire Marié Veuf Divorcé

Matériel végétal :

Nom de la plante :

▪ **Nom vernaculaire :**

▪ **Nom local :**

▪ **Nom scientifique :**

▪ **Usage de la plante :**

Thérapeutique Cosmétique Alimentaire

▪ **Propriété thérapeutique, cosmétique, ou alimentaire :**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

▪ **Technique de la récolte :**

Manuel Mécanique

▪ **Saison de la récolte :**

Hiver Printemps Été Automne

▪ **État de la plante utilisé :**

Fraîche Desséché

▪ **La méthode de séchage (si la plante desséchée) :**

- A l'abri de la lumière Exposé à la lumière A l'abri de l'humidité Exposé à l'humidité
Endroit aérien

▪ **Partie utilisée :**

- Tige Fleurs Fruits Graine Écorce Feuilles Racine partie aérienne entière Plante entière

▪ **Mode d'utilisation :**

- Infusion Poudre Huile essentielle Cataplasme Pommade Fumigation Inhalation
Douche Autre

▪ **Dose utilisée :**

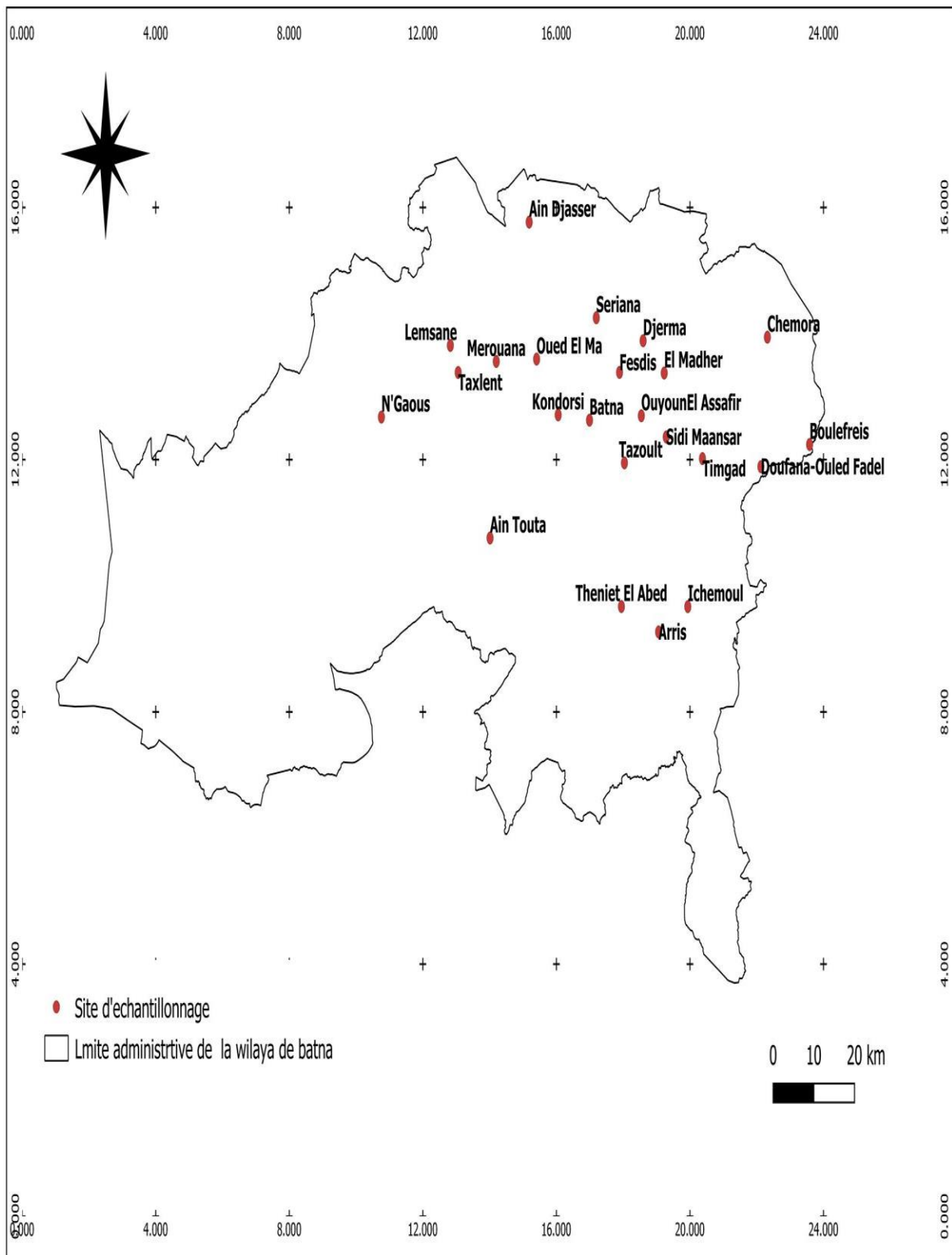
- Poignée Cuillerée Pincée

▪ **Toxicité :**

- Oui Non

Annexe 2

Site d'échantillonnages du lait cru et du babeurre



Annexe 3

Antibiogramme des différentes souches isolées à partir du lait cru et du babeurre (S : sensible, R : résistante).

ATB																	
Souche	AMC	CAZ	CTX	ATM	FEP	AMX	AM	FOX	CIP	STX	AMK	GEN	NA	C	TE	ETP	IPM
<i>Hafnia paralvei</i> SB1	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
<i>Enterobacter xiangfangensis</i> SB2	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i> SB3(BLSE)	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB4	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB5 (BLSE)	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB6	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	S	S
<i>Hafnia paralvei</i> SB7	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Hafnia paralvei</i> SB8	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
<i>Hafnia paralvei</i> SB9	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella oxytoca</i> SB10	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
<i>Citrobacter freundii</i> SB11	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB12 (BLSE)	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S
<i>Escherichia coli</i> SB13 (BLSE)	S	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB14 (BLSE)	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S
<i>Escherichia coli</i> SB15 (BLSE)	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S
<i>Escherichia coli</i> SB16 (BLSE)	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S
<i>Escherichia coli</i> SB17	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB18	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB19	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	S	S

Résultats de l'identification des espèces, multi-résistance, caractérisation phénotypique et moléculaire des gènes de BLSE.

Isolats avec numéro d'accès dans NCBI	BLSE	Multi-résistance	<i>Bla</i> _{TEM}	<i>Bla</i> _{SHV}	<i>Bla</i> _{CTX}
<i>Hafnia paralvei</i> SB1 MW577698	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter xiangfangensis</i> SB2 MW577699	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> SB3 (BLSE) MW577700	+	+	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB4 (BLSE) MW577701	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB5 (BLSE) MW577702	+	+	-	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB6 (BLSE) MW577703	+	+	-	+	-
<i>Hafnia paralvei</i> SB7 MW480205	-	-	-	-	-
<i>Hafnia paralvei</i> SB8 MW480206	-	-	-	-	-
<i>Hafnia paralvei</i> SB9 MW480207	-	+	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i> SB10 MW480208	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i> SB11 MW480209	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB12 (BLSE) MW480210	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> SB13 (BLSE) MW480211	+	+	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB14 (BLSE) MW480212	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> SB15 (BLSE) MW480213	+	+	+	-	-
<i>Escherichia coli</i> SB16 (BLSE) MW480214	+	+	-	-	+
<i>Escherichia coli</i> SB17 (BLSE) MW480215	+	+	+	-	+

Suite du tableau					
Isolats avec numéro d'accès dans NCBI	BLSE	Multi-résistance	<i>Bl</i> _{TEM}	<i>Bl</i> _{SHV}	<i>Bl</i> _{CTX}
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB18 (BLSE) MW480216	+	-	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> SB19 (BLSE) MW480217	+	+	+	+	+

Annexe 4**Composition des milieux de cultures utilisés****Gélose MacConkey**

Peptone	20g
Sels biliaires	1,0 g
Cristal violet	0,001 g
Lactose	10,0 g
Rouge neutre	0,05 g
Chlorure de sodium	5g
Agar	15g
Eau distillée	1000 mL
pH	7,1

Gélose Nutritive

Extrait de viande	1,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Peptone	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar	15,0 g
Eau distillée	1000mL
pH	7,4

Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande	3g
Hydrolysa de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar	17g
Eau distillée	1000mL
pH	7,4

Bouillon Mueller-Hinton

Infusion de viande	2g
Hydrolysate de caséine	17,5g

Amidon	1,5 g
Eau distillée	1000mL
pH	7,4

TSI

Peptone	15,0 g
Extrait de viande	3,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Peptone pepsique de viande 5,0 g	5,0 g
Glucose	1,0 g
Lactose	10,0 g
Saccharose	10,0 g
Rouge de phénol	0,024 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Sulfate de fer II	0,2 g
Thiosulfate de sodium	0,3 g
Agar	11,0 g
Eau distillée	1000mL
pH	7,5

Eau peptonée exempte d'indole

Tryptone	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Eau distillée	1000mL
Ph	7,3

Annexe 5

Exemple d'alignement de l'ADNr 16 S de l'isolat SB2 avec *Enterobacter xiangfangensis* (strain S15 16S ribosomal RNA gene, séquence partielle, ID : MH384426.1). Soit une identité nucléotidique de 969/970(99%).

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1784 bits(966)	0.0	969/970(99%)	1/970(0%)	Plus/Plus
Query 1		GGAA-CAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTG		59
Sbjct 50		GGAAGCAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTG		109
Query 60		CCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACC		119
Sbjct 110		CCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACC		169
Query 120		AAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAG		179
Sbjct 170		AAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAG		229
Query 180		GTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCAC		239
Sbjct 230		GTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCAC		289
Query 240		ACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAA		299
Sbjct 290		ACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAA		349
Query 300		TGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGT		359
Sbjct 350		TGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGT		409
Query 360		ACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGACAGGGTTAATAACCTGTCGATTGACGTTACCCGCAG		419
Sbjct 410		ACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGACAGGGTTAATAACCTGTCGATTGACGTTACCCGCAG		469
Query 420		AAGAAGCACC GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAA		479
Sbjct 470		AAGAAGCACC GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAA		529
Query 480		TCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCC		539
Sbjct 530		TCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCC		589
Query 540		GGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAG		599
Sbjct 590		GGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAG		649
Query 600		AATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCCG		659
Sbjct 650		AATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCCG		709
Query 660		CCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA		719
Sbjct 710		CCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA		769

Query	720	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCT	779
Sbjct	770	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCT	829
Query	780	TCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAA	839
Sbjct	830	TCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAA	889
Query	840	ATGAATTGACGGGGGCCGACACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGA	899
Sbjct	890	ATGAATTGACGGGGGCCGACACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGA	949
Query	900	AGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTACCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGG	959
Sbjct	950	AGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTACCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGG	1009
Query	960	AACTCTGAGA	969
Sbjct	1010	AACTCTGAGA	1019