



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABDES LAGHROUR -KHENCHELA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : Microbiologie appliquée

Thème

**L'activité antibactérienne des huiles essentielles de
quelques plantes médicinales**

Présenté par : Touaibia rym

Benyad zoulikha

Soutenu le: 24/06/2016

Jury de Soutenance:

Président:	Dauaouia L .	MCA	Université Abbes Laghrou Khenchela
Promoteur :	Zeraib A.	MCB	Université Abbes Laghrou Khenchela
Examineur :	Chorfi S.	MAA	Université Abbes Laghrou Khenchela

Promotion: Juin 2016

Ce mémoire est dédié

À ma maman

À mon père

À mon fiancé

À ma famille

Et à mes amis

TABLE DES MATIERES

Sommaire	
Abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	

SOMMAIRE

Introduction	01
<u>PREMIER CHAPITRE: Synthèse bibliographique</u>	
I- I-1- Les huiles essentielles	03
I-1-1 Définition.....	03
I-1-2-Composition chimique des huiles essentielles et facteurs de variabilité.....	03
I-1-4- Caractères physico-chimiques des huiles essentielles.....	04
I-1-5- Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	04
a- L'hydrodistillation.....	04
b- L'hydrodistillation par entraînement la vapeur d'eau.....	05
I-1-5-2- Extraction par fluide à l'état supercritique	07
I-1-5-3- L'extraction par solvants volatils	07
I-1-6- Activité antibactérienne des HE	07
I-1-7- Mode d'action des huiles essentielles	08
I-I-2- Les antibiotiques	09
I-2-1- Définition	09
I-2-2-Classification des antibiotiques	09
I-2-3- Les effets des antibiotiques sur la croissance des bactéries	11
A/-Bacteriostase	11
B/-Bactéricide	12
I-2-4- Modes d'action des antibiotiques	12
I-2-5- Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques	13
I-2-6- Toxicité des antibiotiques	14

<i>I-3-1 Données bibliographiques sur les espèces étudiées</i>	14
I-3-1- Les espèces végétales.....	14
I-3-1-1- Généralités sur la famille des <i>Asteraceae</i>	14
a-L'espèce <i>Santolina africana</i>	16
b- l'espèce <i>Hertia cheirifolia</i>	16
I-3-1-2 Généralité sur la famille des <i>cupressacées</i>	18
Généralité sur l'espèce <i>Juniperus thurifera</i> L.....	18
a-Classification de l'espèce <i>J. thurifera</i>	19
b-Intérêts biologiques et pharmacologiques.....	20
I-3-1-3- Généralité sur la famille des <i>Apiaceae</i>	20
Généralité sur le genre <i>Pituranthos</i> et l'espèce <i>Pituranthos scoparius</i>	21
a-Classification de <i>Pituranthos scoparius</i>	21
b-Intérêts biologiques et pharmacologiques.....	21
<i>I-3-2- Les souches bactériennes</i>	22
<i>a-Staphylococcus aureus</i>	22
Description morphologique.....	22
Classification.....	24
Pouvoir pathogène.....	24
<i>a-Escherichia coli</i>	25
Description morphologique.....	25
Classification.....	26
Pouvoir pathogène	26
<i>c-Pseudomonas aeruginosa</i>	26
Description morphologique.....	26
Classification.....	27
Pouvoir pathogène.....	27
<i>d-Bacillus subtilis</i>	28
Description morphologique.....	28
Classification.....	29
Pouvoir pathogène.....	29

DEUXIEME CHAPITRE: Matériel et Méthodes

II-1-1 Matériel végétal.....	31
III Lessouches bactériennes.....	31
II-1-3 Matériel de laboratoire.....	31
Réactifs.....	31
Instruments et Appareillage.....	31
II-2-Méthodes.....	31
II-2-1- l'extraction des HE.....	31
A/ L'hydrodistillation par Contact directe.....	32
B/ Hydrodistillation par entrainement a la vapeur d'eau	32
II-2-2- l'activité antibactérienne.....	32
a-Préparation de l'inoculum.....	32
b-Mode opératoire	33
II-2-3- L'effet antibactérien de l'association des HE avec les antibiotiques.....	34

TROISIEME CHAPITRE: Résultats et discussion

III-1- Rendement.....	35
III-2- l'antibiogramme.....	36
III-3- L'aromatogramme.....	40
III-4- L'effet du test de la combinaison.....	45
Conclusion	48
Références bibliographiques	49

Annexes

Résumé

LISTE D'abréviations

Add : aditif

ADN : Acide désoxyribonucléase

Ant : antagoniste

ATCC: American type culture collection.

ATP: adénosine-5'-triphosphate.

B.subtilis : *Bacillus subtilis*.

DIC : dénomination internationale des antibiotiques

E. coli : *Escherichia coli*.

E.P.E.C : *Escherichia coli* entéro-pathogène.

E.T.E.C : *Escherichia coli* entéro-toxinogène.

EC : effet de la combinaison des huiles essentielles

Ex. E.C : *Escherichia coli* extra-intestinale.

GN : gélose nutritive

H : heure.

HE : Huile essentielle.

Liste des Abréviation

Mg: milligramme.

MH : Mueller Hinton

Min : minute.

MI : millilitre

Mm : millimètre

S.aureus : *Staphylococcus aureus*.

S.T.E .C : *Escherichia coli* producteur de Shiga toxine.

SCN : *Staphylocoque* à coagulase négative.

Syn : synergie

V.T.E.C : *Escherichia coli* producteur de vero-toxine.

Introduction



Introduction générale

En raison des effets secondaires des produits chimiques antimicrobiens et de la résistance que les micro-organismes pathogènes établissent contre les antibiotiques, beaucoup d'attention a été prêtée aux extraits bruts des plantes qui commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle des molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses **(Yatlef et al., 2011)**.

L'homme s'intéresse aux plantes depuis toujours et l'histoire des substances naturelles s'identifie en partie à celle de la pharmacie, dont une discipline, la pharmacognosie, étudie les poisons et les remèdes naturels, ou par extension la plupart des substances biologiquement actives **(Chibani, 2013)**.

Le regain d'intérêt aux plantes médicinales et leurs extraits, les huiles essentielles vient essentiellement d'une prise de conscience des malades et de leur désir profonde de revenir aux moyens naturels et efficaces car les plantes offrent un espoir guérison dans le domaine des maladies contemporaines, et le besoin d'information sur les nouveaux produits phytothérapeutiques s'accroît. Le malade tend de plus en plus à fuir les substances chimiques et à éviter les dangers qu'elles peuvent induire **(Benzegouta, 2005)**.

Les études menées sur les productions des molécules anti-infectieuses ont montré que 28 % des produits pharmaceutiques sont d'origine naturelle et 24 % des produits pharmaceutiques synthétiques ont été produits par l'analyse de pharmacophores issues de produits pharmaceutiques) cela suggère que les produits naturels sont une source très importante pour la recherche de nouvelles molécules antimicrobiennes **(Chin et al., 2006)**.

Du fait de l'augmentation continue de la résistance aux antibiotiques, il devient encore plus évident de tester les combinaisons d'huiles essentielles ou de leurs composants avec des antibiotiques. En général, l'utilisation combinée d'agents antimicrobiens ouvre une perspective pour augmenter l'activité antimicrobienne et réduire la toxicité de l'un des deux agents envers les cellules humaines **(Schwalbe et al., 2007)**.

Dans cette optique, notre travail s'intéresse à la valorisation de quelques plantes utilisées dans la médecine traditionnelle par l'évaluation de l'effet antibactérien de leurs huiles essentielles seules et en association avec les antibiotiques.

Le premier chapitre est une synthèse bibliographique, il commence par un aperçu sur les huiles essentielles, les méthodes d'extraction et leur mode d'action sur les micro-organismes. Ensuite une analyse bibliographique portant sur les antibiotiques. Enfin, ce chapitre est clôturé par un aperçu sur les espèces végétales et bactériennes utilisées dans cette étude.

Le deuxième chapitre est consacré au protocole expérimental, alors que le troisième chapitre regroupe les résultats et leur discussion. A la fin de ce manuscrit, nous présentons une conclusion générale et les perspectives.

Partie
bibliographique



I-1- Les huiles essentielles

I-1-1- Définition

De très nombreux auteurs ont tenté de donner une définition des huiles essentielles. Pour la 8^{ème} édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (= essences = huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe, renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (Bruneton 1993).

Les huiles essentielles sont des mélanges de nombreux composés naturels, volatils, caractérisés par une forte odeur et considérés comme des métabolites secondaires des plantes aromatiques (Bakkali *et al.*, 2012).

Les HE se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties des plantes aromatiques : dans les feuilles (basilic), dans les fleurs (rose), dans le fruit (citron), dans les graines (coriandre), dans l'écorce (cannelle) et, pour certaines plantes, c'est dans les racines (ail) (Jacques et Paltz, 1997).

Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites parmi lesquelles environ 300 présentant une importance commerciale dans le cadre d'application pharmaceutique cosmétique, alimentaire, agronomique, ou dans le domaine de la parfumerie (Bakkali *et al.*, 2008; Tajkarimi *et al.*, 2011).

I-1-2- Composition chimique des huiles essentielles et facteurs de variabilité

Les huiles essentielles sont constituées généralement de nombreux composés appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent les monoterpènes en (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20) et les triterpènes en (C30). Ils ont la même origine métabolique. Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. En général, une HE est un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, de cétones, d'éther-oxydes et de carbures. (Benzeggouta *et al.*, 2005).

I-1-3- Facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles dépend de nombreux facteurs dont l'espèce végétale et la saison de récolte (**Paibon et al., 2011**). Elle varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation et peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation (**Demetzos et al., 1999; Mundina et al., 2001**).

I-1-4- Caractères physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînaient à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (**AFSSAPS, 2008**). Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé. Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclérée et de romarin officinal. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

I-1-5- Procédés d'extraction des huiles essentielles

Le procédé d'obtention des HE intervient d'une façon déterminante sur sa composition chimique (**Garnero, 1977**). Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants.

I-1-5-1- La distillation

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arôme du fait qu'elle produit des substances volatiles facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse et exigeant une technologie relativement simple, donc un coût plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable (**Benjilali, 2004**). L'extraction par distillation se fait en exploitant la volatilité aromatique pour les séparer, il existe deux formes de distillation:

a- L'hydrodistillation

L'eau et le végétal sont chauffés ensemble dans un ballon, le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (**figure 1**) (**Bruneton, 1999**).

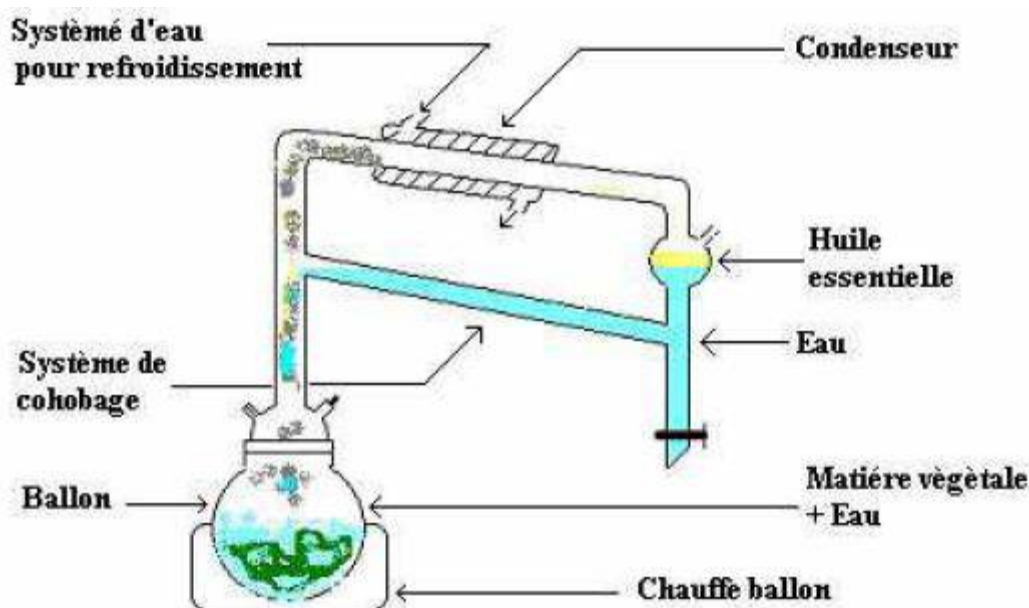


Figure 1 : Appareillage utilisé pendant l'hydrodistillation d'huile essentielle (**Bourrel, 1993**).

b- L'hydrodistillation par entraînement la vapeur d'eau

C'est le procédé le plus utilisé pour obtenir les huiles essentielles (**Baudoux et Zhiri, 2009**). Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau. L'appareil utilisé est un alambic (**Benteaud, 2011**). La vapeur est produite dans un ballon puis acheminée dans un second ballon, dans lequel elle va remonter en passant à travers le matériel végétal et en entraînant les composants aromatiques (**Elhaib, 2011**). On récupère un liquide composé d'eau et d'huile essentielle, cette dernière, plus légère, se sépare de l'eau. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité des huiles essentielles obtenues en diminuant les altérations liées au procédé de distillation (**Baudoux et Zhiri, 2009**).

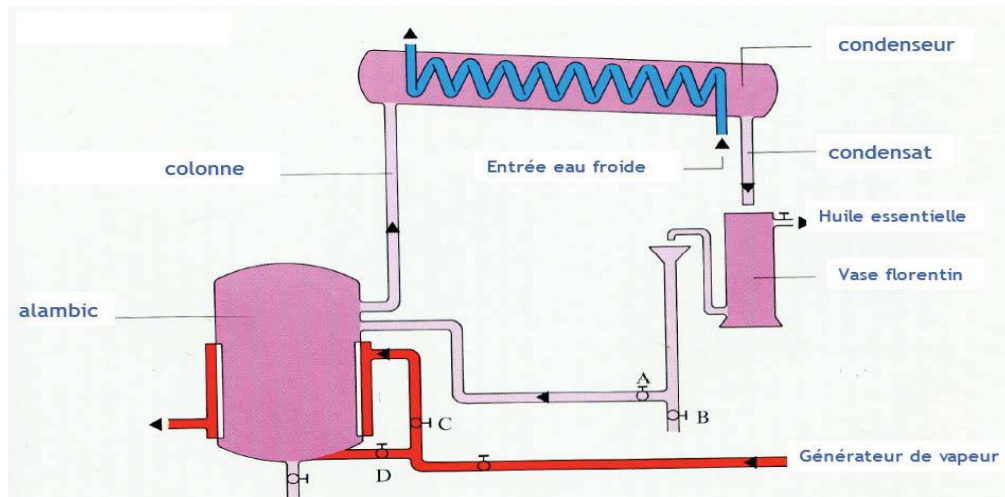


Figure 2: Schéma d'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau (Marie ,2005).

L'hydrodiffusion

C'est une variante de l'entraînement à la vapeur (**figure 3**). Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

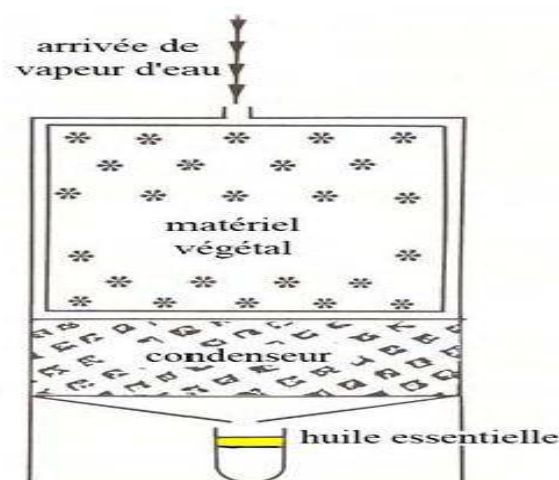


Figure 3: Montage d'hydrodiffusion (Marie, 2005).

I-1-5-2- Extraction par fluide à l'état supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvre généralement le dioxyde de carbone (**Aghel et al., 2004**). D'autres travaux de recherche (**Luque de Castro et Jiménez ,1998 ;Gámiz-Gracia et Luquede Castro ,2000 ;Ozel et al., 2003 ;Deng et al., 2005**). montrent l'utilisation de l'eau dans son état supercritique. Dans ce système, le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente. L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus, les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. A ces différents avantages s'ajoutent ceux de l'innocuité, d'inertie et d'inflammabilité de CO₂ (**Rivera, 2006**).

I-1-5-3- L'extraction par solvants volatils

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratique (**Kim et al., 2002**). Les solvants utilisés (hexane) ont un très grand pouvoir de solubilisation et seront facilement éliminés grâce à leur volatilité. La matière végétale est chargée dans l'extracteur, elle est ensuite épuisée par lavages successifs par le solvant approprié, pendant une durée déterminée, après passage dans un décanteur puis un concentrateur, s'effectue une distillation partielle. Les molécules odorantes, les cires et les pigments sont obtenus (**Beneteaud, 2011**).

I-1-6- Activité antibactérienne des HE

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes : Effet bactéricide (exerçant une activité létale), et l'effet bactériostatique (entraînant une inhibition de la croissance).

L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité Bactéricide. Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides (**Kunle et al., 2003; Walsh et al., 2003**). Toutefois, cette action bactéricide des huiles essentielles sur la cellule bactérienne demeure encore insuffisamment élucidée (**Lakhdar et al., 2012**).

I-1-7- Mode d'action des huiles essentielles

L'action des huiles essentielles s'exerce sur un large spectre de bactéries, incluant Gram positifs et les Gram négatifs. La structure de la paroi cellulaire des Gram positifs les rend toutefois plus sensibles à l'action des huiles essentielles (**Burt, 2004**).

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (**Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004**). Compte-tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires.

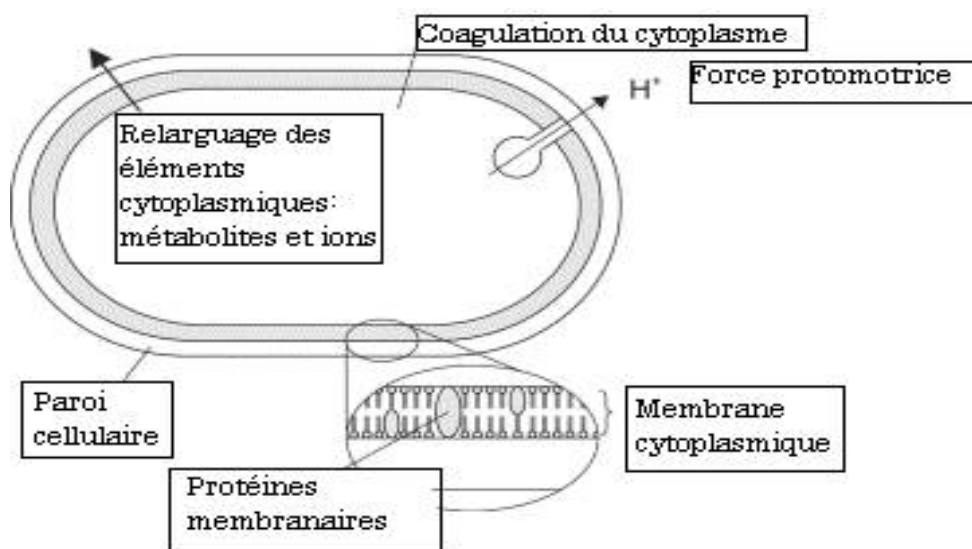


Figure 4 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (**Burt, 2004**).

La principale caractéristique des molécules présentes dans les huiles essentielles est leur hydrophobicité. Elle permet leur solubilisation dans les membranes, ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire (**Sikkema et al., 1994**). Ces modifications entraînent une fuite d'ions et de composés intracellulaires (**Carson et al., 2002 ; Ultee et al., 2002**). Si la perte de matériel est trop importante ou si les éléments cytoplasmiques relargués sont indispensables à la survie de la bactérie, cela entraîne la mort cellulaire.

Le mode d'action de certaines molécules antibactériennes a été décrit dans la littérature. Le carvacrol et le thymol semblent capables d'augmenter la perméabilité membranaire (**Lambert et al., 2001**). En détruisant la membrane externe des Gram négatifs, ils augmenteraient la perméabilité de la membrane plasmique aux métabolites cellulaires (**Helander et al., 1998**).

I-2- Les antibiotiques

I-2-1- Définition

Les antibiotiques sont des substances chimiques originellement produites par des micro-organismes (les champignons et les bactériens), capables d'inhiber ou tuer à faibles concentrations d'autres microorganismes (**Marinelli, 2009**). Leurs cibles d'activité sont des structures moléculaires spécifiquement bactériennes. Elles ont donc une toxicité sélective pour les cellules procaryotes et une toxicité faible pour les cellules eucaryotes (**Avril et al., 2002**). Un grand nombre d'antibiotiques a été identifié en milieu naturel, mais moins de 1% sont médicalement utiles. Beaucoup d'antibiotiques naturels ont été structuralement modifiés en laboratoire pour augmenter leur efficacité formant la classe de l'antibiotique semi-synthétique (**Madigan et Martinko, 2007**).

I-2-2- Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés dans des familles et parfois des groupes dans lesquels les représentants possèdent des caractères voisins ou identiques (**Larpen et Sanglier, 1989**). Cette classification est faite selon: le mode d'action, le spectre d'activité (sur les cocci à Gram Négatif et autres), l'origine de la molécule (naturelle, synthétique ou semi synthétique) et la structure chimique. Il existe actuellement plus de 10 familles d'antibiotiques utilisés en médecine.

A l'intérieur d'une famille, les molécules sont regroupées selon leur spectre d'activité, exemples : A, M, G. Au sein d'une même famille, les molécules peuvent aussi être regroupées en fonction des modifications successives apportées à leur structure chimique pour élargir leur spectre d'activité ou améliorer leur pharmacologie. On parle alors de «génération d'antibiotiques» telles les céphalosporines et les quinolones. (**Boulaïbal et al., 2010**).

Tableau 01 : classification des antibiotiques (Flandrois *et al.*, 1997; Meyer et Dieana, 2004; Boulahbal *et al.*, 2010).

Famille, Groupe	Antibiotique (DCI)	Cible bactérienne	Mode d'action
β -lactamines Pénicillines Oxapénames	Amoxiciline Benzathine pénicilline : Péni V Péni M oxacilline Ac.clavulanique Amoxicilline Ac.clavulanique+ticarcilline	Peptidoglycane	Fixation sur la protéine membranaire(PLC)
Céphalosporines Carpapénèmes Glycopeptides	Céfazoline Céfotaxine Ceftriaxone Céfxime Ceflazidime Imipénème Vancomycine Teicoplamine Fosfomycine	Peptidoglycane	Inhibition de l'action des transglycosylases Bloquage de la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexe Bloquage de la pyruvyl- transférase
Polymyxines	Colistine	Membrane externe	Fixation sur les phospholipides en provoquant une perméabilité membranaire
Quinolones Rifamycine Nitrofuranes	Ac.Nalidixique Ac.Oxinalique Ac.Pipémidique Ac. Flémuquine Rifampicine Nitrofuroxazide Nitrofurantoïne	L'appareil nucléaire	Bloquage de l'activité des topoisomérase Inhibition de l'activité des ARN polymérase ADN dépendante Formation d'un complexe avec un brin d'ADN (coupure de l'ADN

Phénicolés	Thaimphénicol		Fixation sur la sous unités
Tétracyclines	Chlorotétracycline Doxycycline		50S (inhibition de la liaison peptidique)
Aminosides	Gentamicine Spectinomycine Amikacine Framycetine.	Ribosome	Fixation sur la sous unités 30s Erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines
Macrolides	Erythromycine Spiramycine Azithromycine		Fixation irréversible sur la sous unités 50S
Straptogramines	Pristinamycine Virginamycine		C'est un inhibiteur de la synthèse protéique interférant avec le facteur d'élongation
Acide fusidique	Acide fusidique		
Sulfamides et association	Sulfamethoxazole + Trimethoprime	Métabolisme	Inhibition de la synthèse de l'acide folique

I-2-3- Les effets des antibiotiques sur la croissance des bactéries

Les effets des antibiotiques sont extrêmes, divers, puisqu'ils dépendent de l'antibiotique et du germe étudié (**Flandrois, 1997**). L'effet de l'antibiotique n'est pas le même sur toutes les bactéries : chaque antibiotique est caractérisé par son spectre d'action, correspondant à l'ensemble des bactéries habituellement sensible.

A/-Bacteriostase

Selon (**Flandrois, 1997**), la Bacteriostase correspond à un ralentissement de la croissance bactérienne, pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance ceci ne vont que si la bactérie était en phase de croissance avant le contact, dans le cas contraire une absence de développement peut aussi correspondre à une augmentation très prononcée du temps de latence. La Bacteriostase peut être étudiée en milieu liquide, par exemple un suivi photomètre de la croissance des micro-organismes en présence de concentration variée d'antibiotiques.

B/-Bactéricide

Certains antibiotiques provoquent, au-delà d'une certaine concentration seuil, l'apparition d'une mortalité bactérienne.

Tableau 02: Les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques
(Guyleval, 2006).

Bactéricides	Bactériostatiques
β -lactamines (sur bactéries en croissance)	Phénicolés
Vancomycine	Tétracyclines
Polypeptides	Macrolides et Lincosamides
Aminosides	Sulfamides
Straptogramines	Rifampicine (plus ou moins bactéricide)
Quinolones	Synergistines
5-Nitro-imidazolés	Acide fusidique
Polymyxines	Fosmycine

I-2-4- Modes d'action des antibiotiques

Un antibiotique agit du fait de son affinité pour une cible vitale pour la bactérie. Sa fixation spécifique inhibe le fonctionnement de cette cible qui est en général une enzyme ou structure clé impliquée dans la synthèse de la paroi, les acides nucléiques, des protéines ou de la membrane cytoplasmique (Guillemot *et al.*, 2005).

Les modes d'action majeurs des antibiotiques incluent : l'interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire (β -lactamines), l'inhibition de la synthèse protéique (Tenover, 2006). Les aminosides agissent au niveau du ribosome bactérien et perturbent la synthèse protéique (Eric, 2008). l'interférence avec la synthèse de l'acide nucléique (les quinolones sont spécifiques à l'ADN bactérien et exercent une activité bactéricide pendant la phase de multiplication et de repos des bactéries) (Larouche, 2001). et l'inhibition d'une voie métabolique (Tenover, 2006). L'action sur la membrane est aussi un mécanisme antibactérien très répandu.

Les polymyxines induisent l'augmentation de la perméabilité membranaire causant la perte du contenu de la cellule bactérienne (**Storm, 1997**), tandis que le lipopeptide cyclique daptomycine agit, apparemment, par l'insertion de sa queue lipidique à l'intérieur de la membrane, causant sa dépolarisation et éventuellement la mort bactérienne (**Carpenter et Chambers, 2004**).

Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire

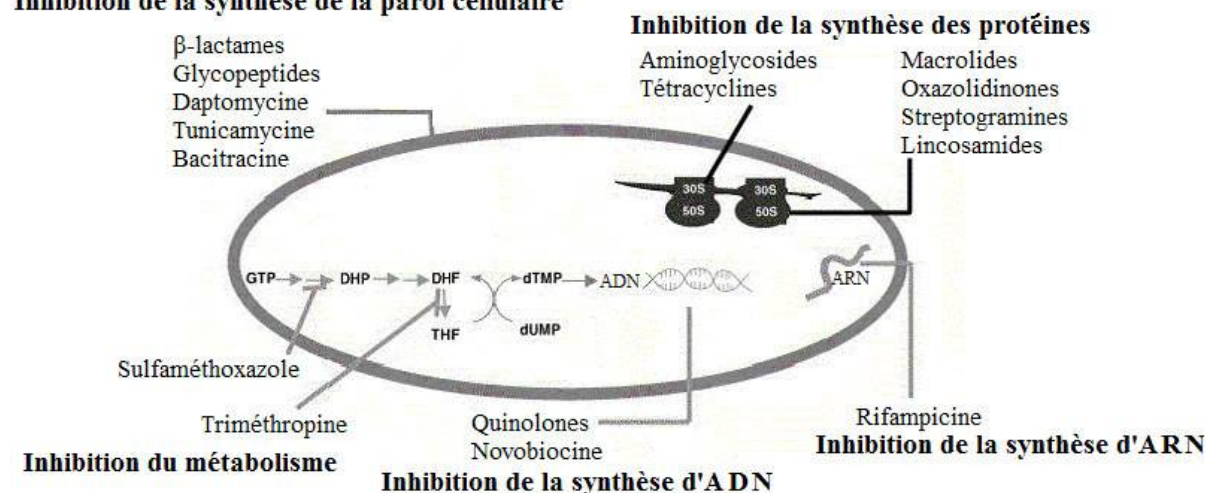


Figure 5 : Mode d'action des antibiotiques (**Singh et Barrett, 2006**).

I-2-5- Mécanismes de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Les bactéries peuvent devenir résistantes aux antibiotiques via différents mécanismes (**Tenover, 2006**). C'est un facteur compliquant l'action de ces antibiotiques. Il en existe 3 modes : la modification de la cible (la cible de l'antibiotique est modifiée et l'antibiotique ne peut plus s'y fixer), l'inactivation enzymatique (l'antibiotique est modifié par la production d'une enzyme bactérienne et ne reconnaît plus sa cible), l'imperméabilité, c'est la diminution de la pénétration et l'efflux actif par des pompes plus ou moins spécifiques (**Guillemot et al., 2005**).

La résistance d'une bactérie à un antibiotique peut être naturelle ou acquise. Elle est naturelle quand elle existe pour les souches dites sauvages appartenant à l'ensemble des souches d'une espèce bactérienne, elle est toujours transmissible à la descendance (**Andreu, 2003**), par ailleurs une souche sensible peut acquérir une résistance à un ou plusieurs antibiotiques, soit par mutation, soit par divers transferts génétiques. Les résistances acquises sont généralement observées parmi les souches isolées de milieux dans lesquels une pression de sélection s'impose (**Guyleval, 2006**).

Le développement de la résistance aux β -lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa* a été associé à la production de β -lactamines acquises, la surproduction constitutive des céphalosporines ou mécanismes non enzymatiques tels que l'efflux ou l'imperméabilité de la membrane externe (Cavallo *et al.*, 2002).

I-2-6- Toxicité des antibiotiques

En plus de son action sur les bactéries, un antibiotique peut exercer des effets néfastes sur les cellules eucaryotes. Cette toxicité se manifeste la plupart du temps quand la dose administrée est trop élevée ou lorsque le traitement est de longue durée. Par ailleurs, certains antibiotiques peuvent augmenter les effets thérapeutiques et toxiques d'autres médicaments en inhibant leur fixation, ou leur inactivation dans l'organisme. Il faut noter que les troubles toxiques causés par les antibiotiques sont différents d'une famille à l'autre (Benzeggouta, 2005).

I-3- Données bibliographiques sur les espèces étudiées

I-3-1- Les espèces végétales

Les espèces étudiées appartiennent à trois familles à savoir : la famille des *Asteraceae* (*Hertia cheirifolia* et *Santolina africana*), la famille des *Cupressaceae* (*Juniperus thurifera*) et la famille des *Apiaceae* (*Pituranthos scoparius*).

I-3-1-1- Généralités sur la famille des *Asteraceae*

La famille des *Asteraceae* est l'une des plus vastes familles du règne végétale. Elle appartient à l'ordre des *campanulales* (Spichiger *et al.*, 2004; Dupont et Guignard, 2007).

Les *Asteraceae* sont répandues dans le monde entier; surtout dans les régions tempérées, moins fréquentes dans les forêts tropicales humides (Dupont et Guignard, 2007; Spichiger *et al.*, 2004).

Les *Asteraceae* peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces, elles ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les une à côté des autres, sans pédoncules placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelée involucre. Ainsi, contrairement à l'opinion populaire, ce qu'on

appelle une <fleur> de tournesol, de chardon, ou du pissenlit ...etc. n'est en réalité pas une fleur mais un capitule de fleurs (**Barreda et al., 2010**).

Le latex est fréquent dans les tiges (**Florin, 2008**). Elles sont caractérisées par l'inflorescence en capitules. Un capitule comprend un réceptacle commun, plat le plus souvent, sur lequel sont insérées de la base au sommet en ordre spiralé; d'abord bractées stériles vertes (parfois écailleuses, à crochets ou épineuses) formant un involucre, ensuite des petites bractées fertiles non vertes ou paillettes axillant chacune une fleur, l'ensemble forme une fleur composée, ce qui justifie l'emploi du mot «composées» pour désigner cette famille (**Boullard, 1997; Dupont et Guignard, 2007**).

a- L'espèce *Santolina africana*

Caractéristiques Morphologiques

La santoline est un sous-arbrisseau très décoratif et très aromatique de 20 à 60 cm de hauteur, possède de très nombreuses tiges ligneuses très ramifiées qui se développent en touffes denses (**figure 6**). Les rameaux minces dressés et pubescents sont couverts de petits poils et munis de feuilles blanchâtres, velues, pubescentes, sessiles, découpées en lobes très courts ne dépassant pas 2 mm sur 2 rangs de part et d'autre de l'axe, subcylindriques ou obovales. Les capitules bombés d'un jaune vif, dépourvus de ligules, larges de 8 à 10mm, sont solitaires au sommet des rameaux. Les corolles en tube dilaté à la base et coiffant l'ovaire, sur un réceptacle muni d'écailles étroites et obtuses, sont entourées d'un involucre glabre à bractées portant une nervure saillante sur le dos. Les fruits à 4 angles sont dépourvus d'aigrettes (**Giner et canavate, 2000**).



Figure 6 : Aspect en sous arbrisseau à touffes denses de *Santolina africana* L.

Classification de l'espèce *Santolina africana* L.

Santolina africana L est classée comme suit: **(Spichiger et al., 2004; Dupont et Guignard, 2007).**

Règne : *Plantae*

Embranchement: *Angiospermes*

Classe : *Dicotylédones*

Sous Classe : *Asteridae Gamopétales*

Ordre : *Asterales*

Division : *Magnoliophyta*

Famille: *Asteraceae*

Tribu : *Anthemideae*

Genre : *Santolina*

Espèce : *Santolina africana* L.

Usage traditionnel

Plusieurs espèces du genre *Santolina* sont été utilisées en médecine traditionnelle **(pâla-Paul et al., 2001)**. L'espèce *S. africana* L.est largement utilisée en médecine traditionnelle grâce à ses propriétés antispasmodiques, analgésiques, désinfectantes, anti-inflammatoires, bactéricides et fongicides **(Da Silva, 2004)**. En infusion, les fleurs et les feuilles sont utilisées comme vermifuges pour les enfants et pour traiter la mauvaise digestion ainsi que les problèmes menstruels **(Grosso et al., 2009)**. L'infusion de la santoline a aussi une action insectifuge sur les pucerons, les acariens et les chenilles. La poudre de la santoline est utilisée localement pour soulager les douleurs liées aux piqures des insectes. Quand elle est appliquée sur les plaies, elle accélère la cicatrisation **(Ahuja et al., 2005; Lopez et al., 2008)**. La santoline est largement utilisée dans les cas de maux de tête, maux de ventre, comme dépurative, tranquillisante et digestive pour les moutons **(Akerreta et al., 2007)**.

b- l'espèce *Hertia cheirifolia*Caractéristiques morphologiques

Hertia cheirifolia est une plante vivace, glabre, en touffes denses. Originnaire d'Afrique du Nord (elle se trouve uniquement en Algérie et en Tunisie), qui s'est bien adaptée en région méditerranéenne. Les tiges couchées à la base puis ascendantes elles peuvent atteindre 50 cm,

et retomber sur un talus ou un vieux mur .Trois pieds couvriront facilement un mètre carré. *Hertia cheirifolia* aime le soleil, le sol bien drainé (pas d'eau stagnante), et qui supporte bien le calcaire. Feuilles persistantes, alternes sessiles, un peu charnues, oblongues-mucronulées et entières. Capitules jaune citron, hétérogames, multiflores, radiés, solitaires sur des pédoncules nus et élargis au sommet, assez gros (2cm de diam.). Akènes pubescents, à aigrette fournie et atteignant 2cm (**Quezel et Santa, 1963**).



Figure 7 : La partie aérienne de *Hertia cheirifolia* en stade de floraison.

Classification de l'espèce *H. cheirifolia*

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Angiospermes* (plante à fleurs)

Classe : *Dicotylédones*

Sous classe : *Asteridae*

Ordre: *Asterales*

Division : *Magnoliophyta*

Famille : *Asteraceae*

Tribu : *Senecioneae*

Genre : *Hertia* Neck

Espèce: *Hertia cheirifolia* Otto Kuntze (1891).

I-3-1-2 Généralité sur la famille des *cupressacées*

La famille *des cupressaceae* compte 135 espèces réparties en 29 genres (**Dorling, 2006**). Il s'agit d'arbres ou d'arbustes persistants. Les *cupressaceae* présentent trois types de feuilles, les deux premiers s'observant plus ou moins tardivement à la maturité de l'individu, le dernier type étant une forme juvénile, quelquefois présente chez les formes adultes de certaines espèces (*Juniperus Oxycedrus* L., *J. communis* L.) (**Maire, 1967**).

a- Généralité sur l'espèce *Juniperus thurifera* L.

Le genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) est un arbre ou arbuste dioïque, de port très variable, à feuilles en écailles et à galbules noirs bleuâtres à maturité (**Figure 8**) (**Gauquelin, 1999**).



Figure 8: L'espèce *Juniperus thurifera* L. dans son milieu naturel.

Le genévrier thurifère est une espèce, dont l'aire de répartition est limitée à la partie occidentale du bassin méditerranéen. Présent en Italie, en France, en Espagne, au Maroc et en Algérie. En Algérie, le thurifère est uniquement localisé aux Aurès, terminaison orientale de l'Atlas saharien (**Baghami et al., 2013 ; Zeraib, 2016**).

b- Classification de l'espèce *J. thurifera*

Au sein du taxon *Juniperus thurifera* L., une première différenciation infraspécifique sur des bases à la fois géographiques et morphologiques (feuillage, galbules), avait été proposée sans pour autant faire l'unanimité: elle distinguait trois variétés: la variété *gallica* De Coincy, pour la France; la variété *hispanica* Miller, type de l'espèce pour l'Espagne; et la variété *africana* Maire, pour les Atlas (**Gauquelin, 1999**).

Les populations algériennes de *Juniperus thurifera* des Aurès sont rares et très peu étudiées. Malgré qu'elles soient situées à plus de 1000 km à l'est de celles du Maroc, ces populations sont souvent assimilées de manière péremptoire aux populations marocaines en leur appliquant ainsi sans vérification les conclusions taxonomiques et biogéographiques s'y rapportant (**Zeraib, 2016**).

L'étude génétique menée par **Terrab et al. (2008)**, suivie par une synthèse taxonomique, complétée d'une brève étude morphologique des galbules sur des échantillons d'herbier réalisé par **Véla et Schäfer (2013)**, et l'étude phytochimique et chimiosystématique de quelques populations Algériennes effectuée par **Zeraib et al. (2014a)** concluent à la distinction souhaitable d'un taxon marocain (var. ou subsp. *africana*) et d'un taxon algérien nommé var. *aurasiaca* Véla et P. Schäf., var. *nova*. Ces auteurs ont proposé de le classer au rang variétal. On peut résumer la classification botanique du taxon Algérien dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3: La position systématique du taxon Algérien (*Juniperus thurifera* L.), d'après (**Zeraib, 2016**).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Pracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Gymnospermes</i>
Division	<i>Pinophyta</i>
Classe	<i>Pinopsida</i>
Ordre	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Cupressaceae</i>
Sous-famille	<i>Cupressoideae</i>
Genre	<i>Juniperus</i> L.

Section	<i>Sabina</i>
Espèce	<i>Juniperus thurifera</i> L.
Variété	<i>aurasiaca</i>

c- Intérêts biologiques et pharmacologiques

Le genévrier présente de multiples intérêts, écologiques, socioéconomiques, floristiques, scientifiques et culturels dans toute son aire de répartition (**Gauquelin, 1999**). La partie arienne de *Juniperus thurifera* est utilisée en médecine traditionnelle et ses composés chimiques sont incorporés dans des préparations pharmaceutiques d'usage particulièrement antiseptiques attribué à la présence d'huiles essentielles (**Stassi et al., 1996**).

I-3-1-3- Généralité sur la famille des *Apiaceae*

Plantes vivaces poussant en touffes importantes avec des nombreuses tiges droites donnant à la plante une allure jonciforme. Les feuilles ne sont présentes qu'à la base de la plante avec des tiges florales à ombelles latérales composées de fleurs blanches à pédoncule souvent court à une odeur de fenouil très agréable (**Quezel et Santa, 1963**).

a- Généralité sur le genre *Pituranthos* et l'espèce *Pituranthos scoparius*

Le genre *Pituranthos* compte plus de vingt espèces, dont certaines sont spécifiques à l'Afrique du nord (**Quezel et Sanata, 1963; Kaabeche, 1990**), et sont souvent rencontrées dans les régions arides ou désertiques (en Algérie elle est abondante dans les Aurès et au Sahara Central, le plateau du Tassili des Ajjers et dans le Hoggar) (**Ozanda, 1991**).

Quezel a décrit le genre *Pituranthos* comme une plante vivace, totalement aphyllé, à tige très ramifiées dès la base, plus ou moins dichotomes et portant des ombelles longuement pédonculées à involucre et involucelles polyphylles et des péricarpes ovoïdes à six bandelettes pétales verdâtres à nervures dorsales pubescentes et larges, fruits poilus (**Ozanda, 1958 ; Quezel et Sanata, 1963**).

Le potentiel floristique algérien de ce genre comporte les espèces suivantes:

- Pituranthos scoparius*, espèce abondante dans les Aurès.
- Pituranthos chloranthus*, endémique au Sahara Algérienne.
- Pituranthos battandieri* (Mair): endémique au Sahara marocain et l'oranie (**Bellakhdar, 1997**).

Pituranthos scoparius est une plante herbacée, à tiges souvent très ramifiées, ombelle à involucre, ovoïde à 6 bandelettes, formant des touffes : tiges florifères érigées bien plus longues, à ombelles latérales et pédoncule court (1 - 3 cm). Les fleurs sont de couleur blanche (Quezel et Santa, 1963).



Figure 9: *Pituranthos scoparius* (Coss. et Dur.) Benth et Hook.

b- Classification de *Pituranthos scoparius*

D'après (Quezel et Santa 1963). *Pituranthos scoparius* est classée comme suit :

Règne : *Plantae*

Embranchement : *Spermaphytes*

S/embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Apiales*

Famille : *Apiacées*

Genre : *Pituranthos*

Espèce : *Pituranthos scoparius*

Nom binomiale : *Pituranthos scoparius* (Coss et Dur.) Benth et Hook.

c- Intérêts biologiques et pharmacologiques

Le décocté des feuilles est efficace dans le traitement de l'asthme, alors que le macérât aqueux des feuilles est préconisé en cas d'ictère, contre les morsures des vipères et les piqûres des scorpions, certains recommandent l'application locale de la poudre des feuilles ; cette dernière en cataplasme soulagerait également les douleurs rhumatismales (Boukef, 1986).

Cette plante est notamment utilisée comme médicament contre : les spasmes, les douleurs du diabète, l'hépatite, les infections urinaires et les difficultés digestives (**Hammiche et al., 2006**).

I-3-2- Les souches bactériennes

a- *Staphylococcus aureus*

Les Staphylocoque sont des cocci à Gram positif de la famille *des Micrococcaceae* parmi les 43 espèces et sous espèces *de Staphylocoques* décrites, *S. aureus* est une espèce particulière. Elle suppose aux autre espèces d'un point de vue phénotypique et clinique, *S.aureus* produit une enzyme appelée coagulase (capable de coaguler le plasma) qui le distingue des autres espèces regroupées en Staphylocoques à coagulase négative (*S. epidermidis*, *S. lugdunensis*, *S. warneri*) (**Pfalleret et al., 1988**).

Les staphylocoques apparaissent le plus souvent en amas dits en grappes de raisin (terme issu du Grec : Staphule qui veut dire grappes).

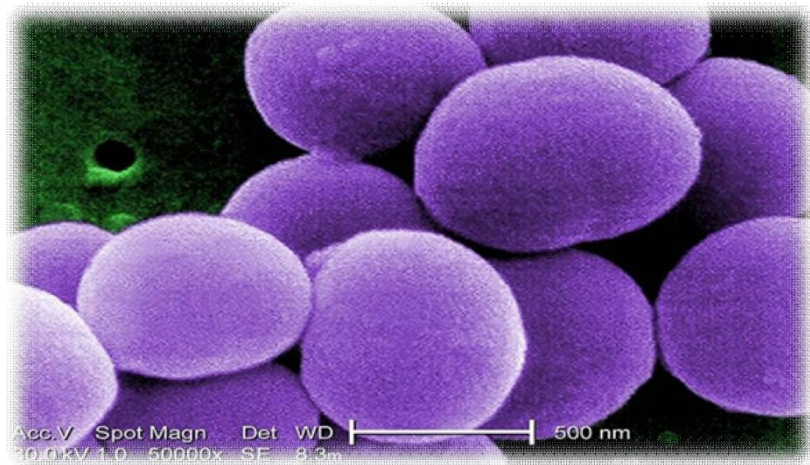


Figure 10: La forme des cocci staphylocoques.

Staphylococcus est une bactérie de genre coques, coagulase positive pour *Staphylococcus aureus*, négatif pour les autre ce dernier responsable de nombreuses infections humaines et animales. (**Darbouche, 2011**).

D'un point de vue clinique, *S. aureus* est l'espèce la plus pathogène et sa virulence a été reconnue dès l'ère pasteurienne. A l'opposé, le rôle pathogène des S.C.N n'a été établi que

dans les années 80 et concerne principalement des infections subaiguës favorisées par la présence de matériel étranger (**Rohde et al., 2010**).

Toutefois, *S. aureus* est également une bactérie commensale. En effet, elle peut coloniser la peau ou la muqueuse d'un hôte sans causer de dommage ni de réaction inflammatoire pendant des années, son pouvoir pathogène s'exprime à partir d'un site colonisé, et entraîner une infection et une réaction inflammatoire dont l'importance dépendra de l'état clinique de l'hôte, de la porte d'entrée et des capacités intrinsèque d'invasion de l'isolat de *S.aureus* incriminé. Cette bactérie, à multiples facettes, est responsable d'une grande variété d'infection dont l'expression clinique dépend de la capacité de l'isolat à produire des facteurs de virulence et à interagir avec l'hôte (**Gorden et Lowy, 2008**).

Les Staphylocoques sont une composante essentielle de la flore humaine normale, mais comprenant aussi des espèces qui sont d'importants pathogènes. Après coloration, ils apparaissent sous la forme de cocci à Gram positif en amas (**Figure 11**) (**Hart et al., 1999**).

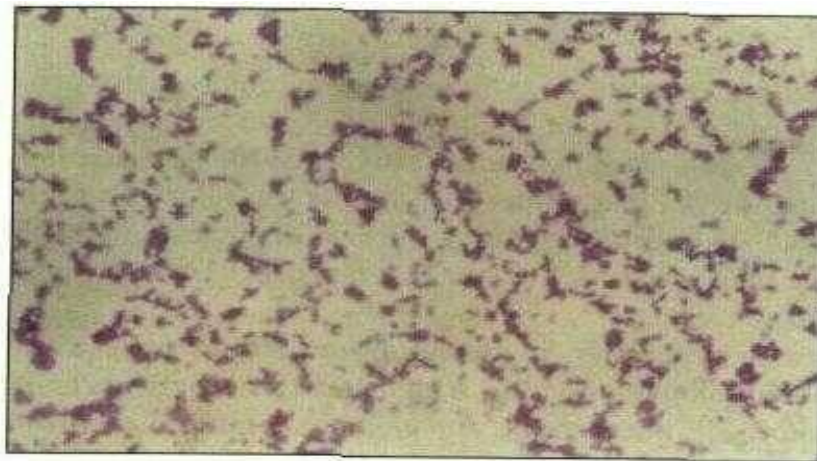


Figure 11: *Staphylococcus aureus*, coloration de Gram montrant les cocci à Gram positif en amas (x1000).

Tableau 4: Différents caractères bactériologiques de *Staphylococcus aureus* d'après (Prescott *et al.*, (2010).

Morphologie	Regroupé en paire, tétrade ou amas réguliers, Immobile ; non sporulé.
Dimension(Mm)	0,5-1
Teneur en GC (mol%)	33%
Type respiratoire	Aéro anaérobie facultatif
Taille de génome (Mb)	2,8-2,9
Type trophique	Chimioorganotrophe
Métabolisme	Fermentaire et/ou respiratoire
Autre caractères	-catalase positive -Oxydase négative -Halophile-mésophile (37°) et psychrophile (6-12°C) -Neutrophile PHopt=7, PHm AW basse jusqu'a 0,83.

Classification

Selon la 9ème édition du bergy's Manual of Systematic Bacteriology, les Staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, dans le phylum des firmicutes,

Classe : *Bacilli*.

Ordre : *Bacillales*.

Famille : *Staphylococcaceae*.

Genre : *Staphylococcus*.

Espèce : *Staphylococcus aureus*.

Pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus est une bactérie pathogène de l'homme. Elle a la capacité d'entraîner un large panel d'infections suppuratives. Ces infections peuvent être circonscrites à un organe ou disséminées dans l'organisme, engageant alors le pronostic vital. Malgré l'utilisation optimale d'antibiotiques efficaces, la morbidité et la mortalité suites aux infections staphylococciques graves restent élevées (Lowy *et al.*, 1998). L'étude de la physiopathologie de ses infections montre que certaines comorbidités de l'hôte (diabète, immunodépression...) sont des facteurs de risque de développer une infection grave (Lowy *et al.*, 2011).

Toutefois, *S. aureus* exprime de nombreux facteurs de virulence liés à la bactérie ou excrétés dans son environnement des protéines de surface, qui initient la colonisation des tissus de l'hôte, des facteurs inhibant la phagocytose et des toxines qui altèrent les cellules, provoquant ainsi des pathologies spécifiques (**Gordon, Lowy, 2008**).

b- Escherichia coli

Description morphologique : *E. coli* est un membre de la famille des *Enterobacteriaceae*. Le genre *Escherichia* rassemble des bacilles droits, non sporulés, immobiles ou mobiles à coloration de Gram négative, Aéro-anaérobies facultatifs (**Euzéby, 2004**). Ces bactéries sont Catalase positive et nitrate réductase positive (**Le Minor et al., 1990**).

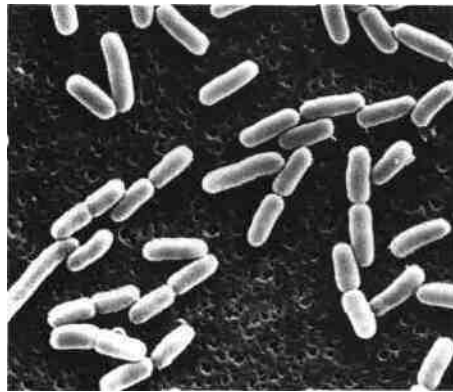


Figure 12: La forme des bacilles.

E. coli se développe en 24 heures à 37 °C sur le milieu gélose en donnant des colonies rondes, lisses à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées (**avril et al., 1992**). *Escherichia coli* appelée également colibacille ou *E. coli* (**Darbouche, 2011**). Les *Escherichia coli* présentent une taille de 3µm (**Boulaḥbal et al., 2009**). Elles font parties de la flore commensale de l'homme et des animaux à sang chaud (**Euzéby, 2011**).

Le bacille *Bacterium coli* commune a été décrit pour la première fois en 1885 après avoir été isolé dans les selles de nourrissons par l'allemand THEODOR ESCHERICH. Castellani et Chalmers proposent de renommer cette bactérie *Escherichia coli* (**Grimont, 1987**). *Escherichia coli* a la particularité de coloniser le tractus gastro-intestinale dans les premiers heures de la vie et ils reprisent près de 80% de la microflore aérobie (**Ghebru, 1988, Nataro et Kaper, 1998 ; Vernozy, 2001**).

Classification d'*Escherichia coli*. (Boulahbal et al., 2010).**Règne** : *Procaryotae***Domaine** : *Bacteria***Phylum** : *Proteobacteria***Classe** : *Gammaproteobacteria***Ordre** : *Enterobacteriales***Famille** : *Enterobacteriaceae***Genre** : *Escherichia***Espèce** : *Escherichia coli***Pouvoir pathogène**

Escherichia coli est un agent ubiquiste faisant partie de la flore gastro-intestinale normale des mammifères et la plupart des souches d'*E. Coli* sont inoffensives. Par contre certaines souches ont réussi à acquérir des attributs spécifiques leur permettant une adaptation à des nouvelles niches et leur offrant la capacité de causer diverses maladies. *Escherichia coli* est donc une cause importante de maladie, et ce, mondialement et chez la plupart des mammifères. Ces attributs spécifiques sont la plupart du temps encodés aux niveaux d'éléments génétiques qui peuvent être mobilisés vers différentes souches afin de créer des nouvelles combinaisons de facteurs de virulence (Kaper et al., 2004).

Certaines souches d'*E. Coli* peuvent être pathogènes entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies (Darbouche, 2011). Les principaux pathotype chez les animaux de consommations sont les *E. Coli* entéro-toxinogène (ETEC); *E. coli* entéro-pathogène (EPEC); *E. Coli* producteur de toxine Shiga (STEC) ou verotoxinogène (VTEC); et *E. coli* extra-intestinaux (EX PEC) (Fraibrother et Nadeau, 2010).

c- *Pseudomonas aeruginosa***Description morphologique**

P. aeruginosa est un bacille à Gram négatif, aérobic strict, à métabolisme oxydatif (Floret et al., 2009). mais en absence d'oxygène elle peut utiliser les nitrates comme accepteur d'électrons (Van Alst et al., 2009). non sporulé, en forme de bâtonnet de 0,5 à 0,8µm de diamètre sur 1,5 à 3,0 µm de longueur, mobile grâce à une flagelle polaire généralement unique (Floret et al., 2009), se présentant de manière isolée ou groupés par

deux ou en courtes chaînes, mobiles grâce à une ciliature monotriche (quelques rares cellules portent cependant plusieurs flagelles polaires) (Euzéby, 2005). C'est une bactérie mésophile capable de se développer dans des températures allant de +4°C à +45°C avec une température optimale de croissance entre 30 et 37°C (Van Alst *et al.*, 2009).

Le génome de *P. aeruginosa* a été séquencé en 2000 chez la souche de référence PAO1. C'est l'un des plus grands génomes bactériens séquencés, avec 6,3 millions de paires de bases. Ce génome donne un aperçu sur sa grande adaptabilité nutritionnelle et métabolique ainsi que la résistance intrinsèque aux antibiotiques (Stover *et al.*, 2000).

Classification

Pseudomonas aeruginosa est classé comme suit :

Embranchement *Prokaryota*

Division *Proteobacteria*

Classe *Gammaproteobacteria*

Ordre *Pseudomonadales*

Famille *Pseudomonadaceae*

Genre *Pseudomonas*

Espèce *Pseudomonas aeruginosa* (Garrity *et al.*, 2010).

Pouvoir pathogène

La bactérie pathogène opportuniste actuellement connue sous le nom de *P. aeruginosa* a reçu plusieurs noms à travers son histoire sur la base de ses cultures de coloration bleu-vert caractéristique produisant le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine, ainsi que son odeur aromatique caractéristique (seringat). Le chirurgien Charles-Emmanuel Sedillot en 1850 fut le premier à observer que la coloration de pansements chirurgicaux a été associée à un agent transmissible (Lister *et al.*, 2009). C'est en 1869 que Fordos a souligné que la coloration était due à un pigment bleu cristallin appelé pyocyanine (Williams et Cameron, 1894). *P. aeruginosa* a été isolé pour la première fois treize ans plus tard en 1882 par Gessard qui a démontré que ce pigment a été le produit d'un organisme, *Bacillus pyocyaneus* (bacille pyocyanique) (Gessard, 1984).

Pseudomonas aeruginosa, espèce pathogène pour l'homme (Höfte et Altier, 2010), responsable d'infections nosocomiales. Une enquête méditerranéenne de prévalence en 2010,

le classe comme étant le troisième principal agent des infections nosocomiales, juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Amazian *et al.*, 2010). d'infections potentiellement mortelles chez les personnes immunodéprimées et d'infections chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose (Ben Hadj *et al.*, 2011).

Les toxines élaborées et les composés de la paroi des espèces de genre *Pseudomonas* sont considérés comme des facteurs essentiels de la virulence. En dehors des pigments, elle élabore des protéines et des substances toxiques. On distingue principalement : une hémolysine thermostable, des exo-enzymes (protéases, phospholipases) et des toxines protéiques (exotoxine, entérotoxine) (Garrity *et al.*, 2010).

d- Bacillus subtilis

Description morphologique

Bacillus sont des bacilles à Gram positif en forme de bâtonnets droits à un diamètre inférieur à 1 µm et dépourvus d'inclusions de poly-bêta-hydroxybutyrate, présentant une spore centrale ou terminale, sphérique ou ovoïde, ne déformant pas la cellule (Talantikite *kellil*, 2015). Le génome complet de *B. subtilis* est publié en 1997, il semble comporter environ 4100 gènes, 86 ARN de transfert, 30 ARN ribosomiaux et 3 ARN stables, c'est une des premières bactéries gram-positives à avoir été séquencé (Kunst *et al.*, 1997).

Habitat

Bacillus subtilis sont bactéries non pathogènes et ubiquitaires, se retrouvent en contact avec toutes sortes de bactéries diverses (Nwosu, 2001). C'est une bactérie vivant dans le sol à des températures modérées (5°C-65°C). Dans sa niche écologique, elle présente un comportement social fascinant en formant des communautés de microorganismes adhérant entre eux et à une surface : les biofilms (Lemort *et al.*, 2008).

Classification (Ehrenberg, 1835).

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Bacillaceae</i>
Genre	<i>Bacillus</i>

Pouvoir pathogène

On retrouve le *Bacillus subtilis* sur des aliments qu'il contamine. Une fois ingéré, le *Bacillus subtilis* peut être à l'origine d'une intoxication alimentaire (**Horde, 2014**).

Matériels et Méthodes



II- Matériel et méthodes

II-1 Matériel

II-1-1 Matériel végétal

Le matériel végétal comprend la partie aérienne (tige, feuilles, et fleurs) de trois espèces *Hertia cheirifolia*, *Santolina africana*, et *Pituranthos scoparius* et les galbules d'une quatrième espèce *Juniperus thurifera* récoltés de deux régions dans la wilaya de Batna. Le lieu et la date de récolte de chaque espèce sont illustrés dans la **figure 13** et le **Tableau 5**.

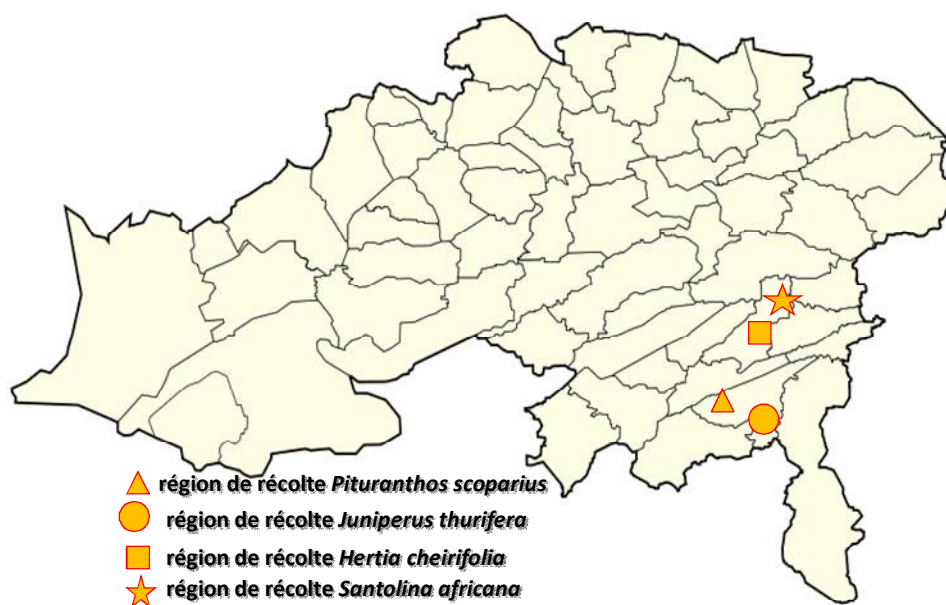


Figure 13: Localités des espèces échantillonnées.

Tableau 5 : Lieux et dates d'échantillonnage.

Espèce	Région	La date de récolte	La partie utilisée
<i>Hertia cheirifolia</i>	Arris	Avril 2016	La partie aérienne
<i>Santolina africana</i>	Arris	Mai 2015	La partie aérienne
<i>Pituranthos scoparius</i>	T'kout	Septembre 2015	La partie aérienne
<i>Juniperus thurifera</i>	T'kout	Décembre 2015	Les galbules

L'identification des espèces a été faite par Dr. Zeraib A. chargé de cours dans la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abbès Laghrour *Khenchela*.

Après la récolte et l'identification, le matériel végétal est nettoyé des impuretés, séché à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant quinze jours, puis coupé en petits morceaux dont le diamètre est inférieur à un centimètre ensuite conservé dans des sachets en papier.

II-1-2 Les souches bactériennes

L'activité antibactérienne des huiles essentielles des quatre espèces a été réalisée en utilisant quatre souches bactériennes de référence : deux bactéries à Gram positive, il s'agit de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus subtilis* ATCC 21332, et deux autres à Gram négative ; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922.

II-1-3 Matériel de laboratoire

a- Réactifs

Méthanol, eau distillée, eau physiologique, gélose nutritive, Mueller-Hinton, les antibiotiques : Amoxicilline (50 µg/ disque), Gentamicine (10 µg/ disque), Ampicilline (100 µg/disque), Céfazoline (30 µg/ disque).

b- Instruments et Appareillage

Tubes à essai, Anse de platine, Bec bunsen, Boîtes de pétri, Ecouvillons, Micropipette, Pince, Autoclave 120°C, Etuve électrique à 37°C, Réfrigérateur, Bain marine, Vortex.

II-2-Méthodes

II-2-1- l'extraction des HE

L'extraction des huiles essentielles à partir de la partie aérienne de trois espèces : *Hertia cheirifolia*, *Pituranthos scoparius* et *Santolina africana* a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation par entraînement à la vapeur d'eau, alors qu'on a utilisé l'hydrodistillation simple (par contact directe) pour l'extraction des HE à partir des graines de *Juniperus thurifera*.

A/ L'hydrodistillation par Contact direct

Une quantité de 150 g de galbules broyées de *Juniperus thurifera* est introduite dans un ballon contenant 1L d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant trois heures (Zeraib *et al.*, 2014b). Les huiles essentielles sont entraînées à la vapeur d'eau. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles passent à travers le tube vertical, puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation dans l'appareil clewenger. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau.

L'huile essentielle ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer de l'eau retenue dans l'huile. Les huiles sont conservées à l'abri de la lumière à (4°C) jusqu'au moment de l'utilisation.

B/ Hydrodistillation par entrainement a la vapeur d'eau

L'extraction des huiles essentielles des trois autres espèces (*Hertia cheirifolia*, *Pituranthos scoparius*, *Santolina africana*) a été effectuée par entrainement à la vapeur d'eau. A la différence de l'hydrodistillation simple, cette technique ne met pas le matériel végétal en contact direct avec de l'eau distillée. La vapeur d'eau passe sur le matériel végétal déposé dans une verrerie montée sur le ballon et surmontée d'un appareil clewenger.

II-2-2- l'activité antibactérienne

La technique utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'antibiogramme est celle de la diffusion sur gélose ou méthode des disques. Cette méthode se base sur la diffusion de l'extrait testé dans la gélose. Elle consiste à déposer à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé par la suspension de germes choisis, des disques en papier-filtre imprégnés des huiles essentielles ou des antibiotiques à tester. Après l'incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (Figure 14).

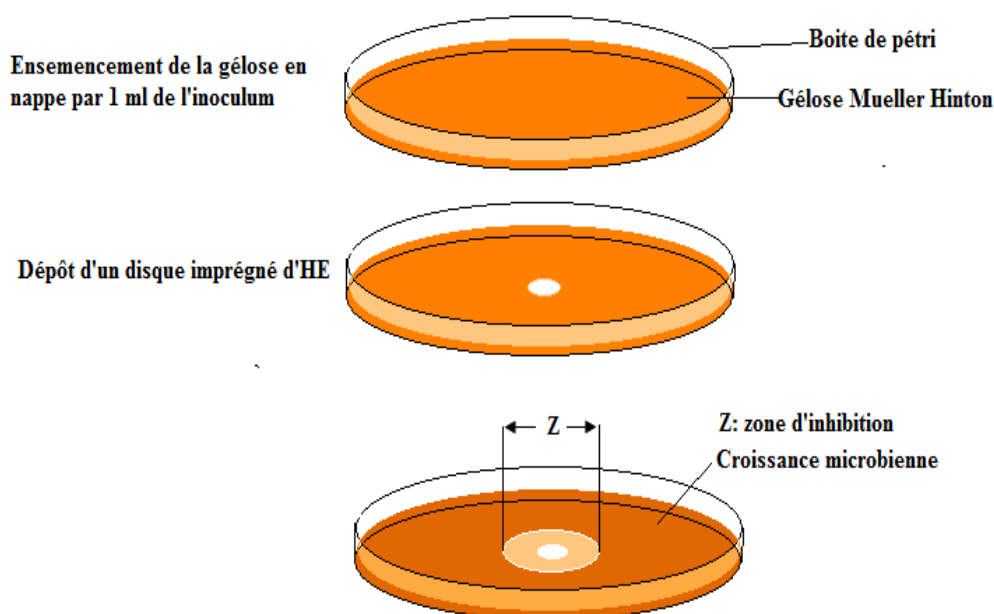


Figure 14: Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné de l'HE. Extraite de **Zeraib (2016)**.

a- Préparation de l'inoculum

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en de Pétri ensuite incubée à 37°C pendant 18 à 24h.

Dans de l'eau physiologique stérile, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont déchargées. Après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, la standardisation à 10 UFC/ml a été réalisée par spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620nm. La D_{620} obtenue doit être comprise entre 0,08 et 0,1 ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC/ml selon Mc Ferland.

b- Mode opératoire

Le test est effectué en cultivant les bactéries sur un milieu Muller Hinton. Chaque boîte de pétri de 90 mm a reçu 20 ml du milieu de culture et estensemencée avec 1 à 2 ml de la suspension microbienne contenant $10^7 - 10^8$ UFC /ml. Les disques d'antibiotique et des disques stériles imprégnés de 10 μ l de l'huile essentielle sont déposés à la surface du milieu. Ensuite ils ont été inversés et incubés à l'obscurité dans une étuve à une température de 37°C durant 24 h.

La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des HE étudiées est classée selon le diamètre d'inhibition (**Ponce et al., 2003**).

- **Non sensible (-)** ou résistante: diamètre < 8 mm.
- **Sensible (+)** : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- **Très sensible (++)**: diamètre compris entre 15 à 19mm.
- **Extrêmement sensible (+++)** diamètre > 20 mm

II-2-3- L'effet antibactérien de l'association des HE avec les antibiotiques

L'évaluation du pouvoir antibactérien de l'association des HE avec les antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur disques en deux étapes différentes. Dans la première étape, nous avons évalué l'activité antibactérienne des dilutions des huiles essentielles allant de 1/2 jusqu'à 1/16 dans le but de déterminer la concentration qui a donné la zone d'inhibition la plus petite.

La seconde étape est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle en association avec l'antibiotique. Les disques des antibiotiques sont imprégnés par 10 µl de l'huile essentielle. Après la période d'incubation, les zones d'inhibition de croissance ont été mesurées.

L'effet antibactérien des combinaisons entre les HE et les AB a été évalué par la formule suivante :

$$EC = [(E_{he} - D) + (E_{ab} - D)] / (E_{he+ab} - D).$$

EC : Effet antibactérien de l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques.

E_{he} : Effet antibactérien des huiles essentielles.

E_{ab} : Effet de l'antibiotique.

D : Diamètre du disque égale 6 mm.

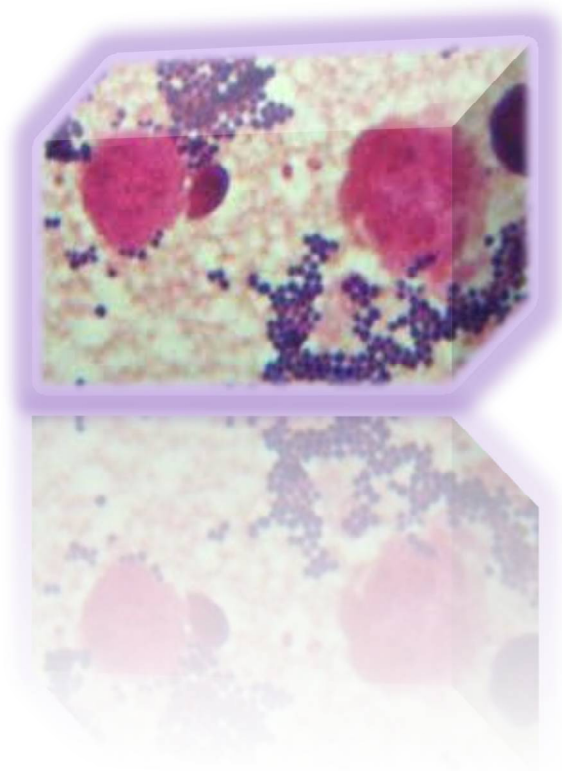
Les interactions peuvent être classées comme suite :

- **Addition** : l'effet de l'association est égale à la somme des effets d'antibiotique et huiles pris isolément.

- **Synergie** : l'effet est supérieur à la somme des effets d'antibiotique et huiles pris isolément.

- **Antagonisme** : l'activité est inférieure à la somme des effets d'antibiotique et huiles.

Résultats et Discussion



III- Résultats et discussion

III-1- Rendement

L'extraction des huiles essentielles à partir de différents organes de plantes médicinales est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans le choix de la méthode d'extraction. Dans notre étude, l'extraction des huiles essentielles a été effectuée en utilisant deux méthodes d'hydrodistillation (l'entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation simple) selon l'organe de la plante utilisée.

La première quantification à faire est celle du rendement en huile essentielle. Les rendements sont exprimés en pourcentage et calculés par rapport à la masse de la matière sèche. Les résultats obtenus sont illustrés dans la **figure 15**.

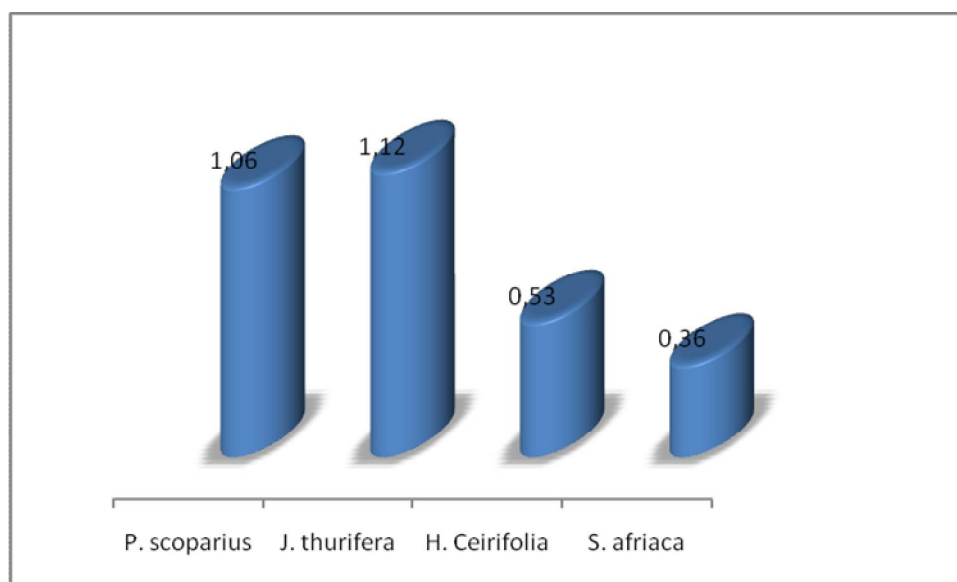


Figure 15: Rendements obtenus à partir l'hydrodistillation des quatre espèces.

Le rendement le plus important a été enregistré à partir les galbules de l'espèce *J. thurifera*, il est de 1,12 %. C'est un rendement important par rapport aux rendements obtenus à partir des feuilles et des tiges de la même espèce (**Achak et al., 2008, 2009; Mansouri et al., 2010; Zeraib et al., 2014a-b**).

La partie aérienne de *P. scoparius* a donné un rendement de 1,06 % en huile essentielle. Cette même espèce récoltée de plusieurs régions en Algérie (Laghouat, Djelfa et Ghardaïa) a fourni par le même procédé de distillation un rendement allant de 0,6 % à 2,8 % (**Gaurine et al., 2011**).

L'hydro distillation de la partie aérienne de *H. cheirifolia* nous a donné un rendement de 0,53 %, il est un peu faible par rapport aux deux espèces précédentes, et similaire au rendement obtenu à partir de l'espèce *Hertia intermedia* (Akhgar *et al.*, 2012).

0,36 % est le rendement le plus faible, il a été obtenu à partir de la partie aérienne de *S. africana* qui est très faible comparé à ceux obtenus de la même espèce au Maroc (Lamarcha *et al.*, 2014) et en Algérie (Zaiter *et al.*, 2015). et d'autres espèces du même genre (Poli *et al.*, 1997). qui ont obtenu un rendement allant de 0,8 jusqu' à 1,6 %.

La quantité et la qualité des huiles volatiles reflètent l'influence des variables génétiques ainsi que celle des facteurs climatiques et des conditions édaphiques (Fluck, 1963; Powell et Adams, 1973 ; Adams *et al.*, 1992 ; El-Sawi *et al.*, 2007; Zeraib *et al.*, 2011).

III-2- l'antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé en testant quatre antibiotiques sur quatre souches bactériennes de référence (American Type Culture Collection), en utilisant la méthode de diffusion sur gélose. Le pouvoir antibactérien de ces antibiotiques est déterminé selon le diamètre de l'halo d'inhibition: les résultats sont présentés ci-dessous (Tableau 06, figures 16-19).

Tableau 6: Résultats de l'antibiogramme des quatre antibiotiques testés sur quatre souches bactériennes.

Bactéries	Gentamicine		Céfazoline		Ampicilline		Amoxicilline	
	M±ET		M±ET		M±ET		M±ET	
<i>S. aureus</i>	38±1	S	48±1	S	57±1	S	58.32±0.58	S
<i>E. coli</i>	34±1	S	50±1	S	55.32±0.58	S	46±1	S
<i>P. aeruginosa</i>	27.32±0.58	S	6±0	R	6±0	R	6±0	R
<i>B. subtilis</i>	30.32±0.58	S	35±1	S	24±1	S	19±1	S

M=moyenne, ET=ECARTYPE, (S)=sensible, (R)= résistance.

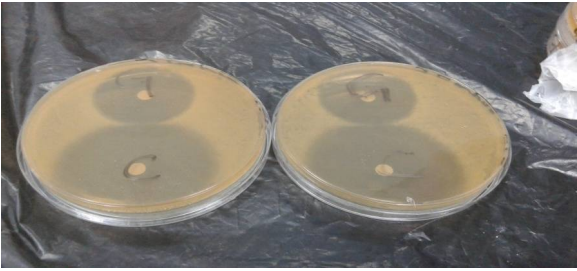
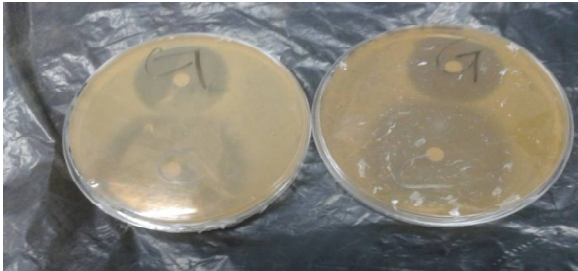
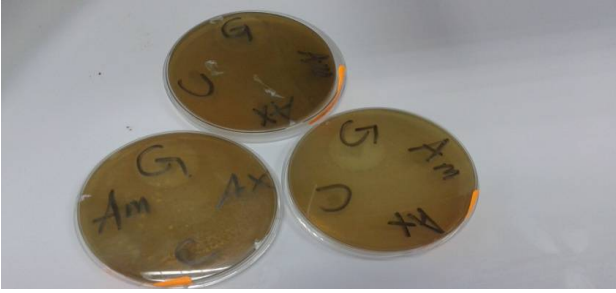
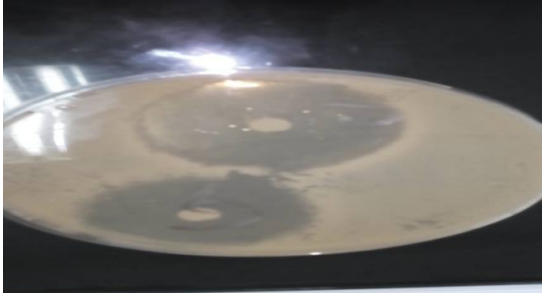


	
<p>La sensibilité de <i>S. aureus</i> vis-à-vis de la gentamicine.</p>	<p>La sensibilité d'<i>E. coli</i> vis-à-vis de la gentamicine.</p>
	
<p>La sensibilité de <i>P. aeruginosa</i> vis-à-vis de la gentamicine.</p>	<p>La sensibilité de <i>B. subtilis</i> vis-à-vis de la gentamicine.</p>

Figure 16 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis de la gentamicine.

	
<p>La sensibilité de <i>S. aureus</i> vis-à-vis du Céfazoline.</p>	<p>La sensibilité d'<i>E. coli</i> vis-à-vis du Céfazoline.</p>

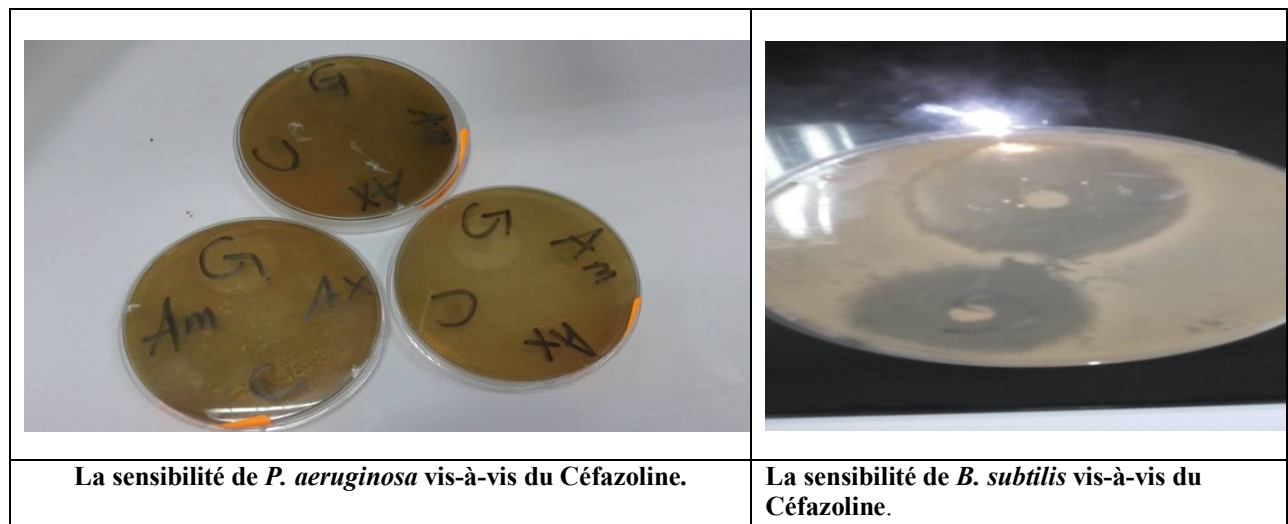


Figure 17 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis du Céfazoline.

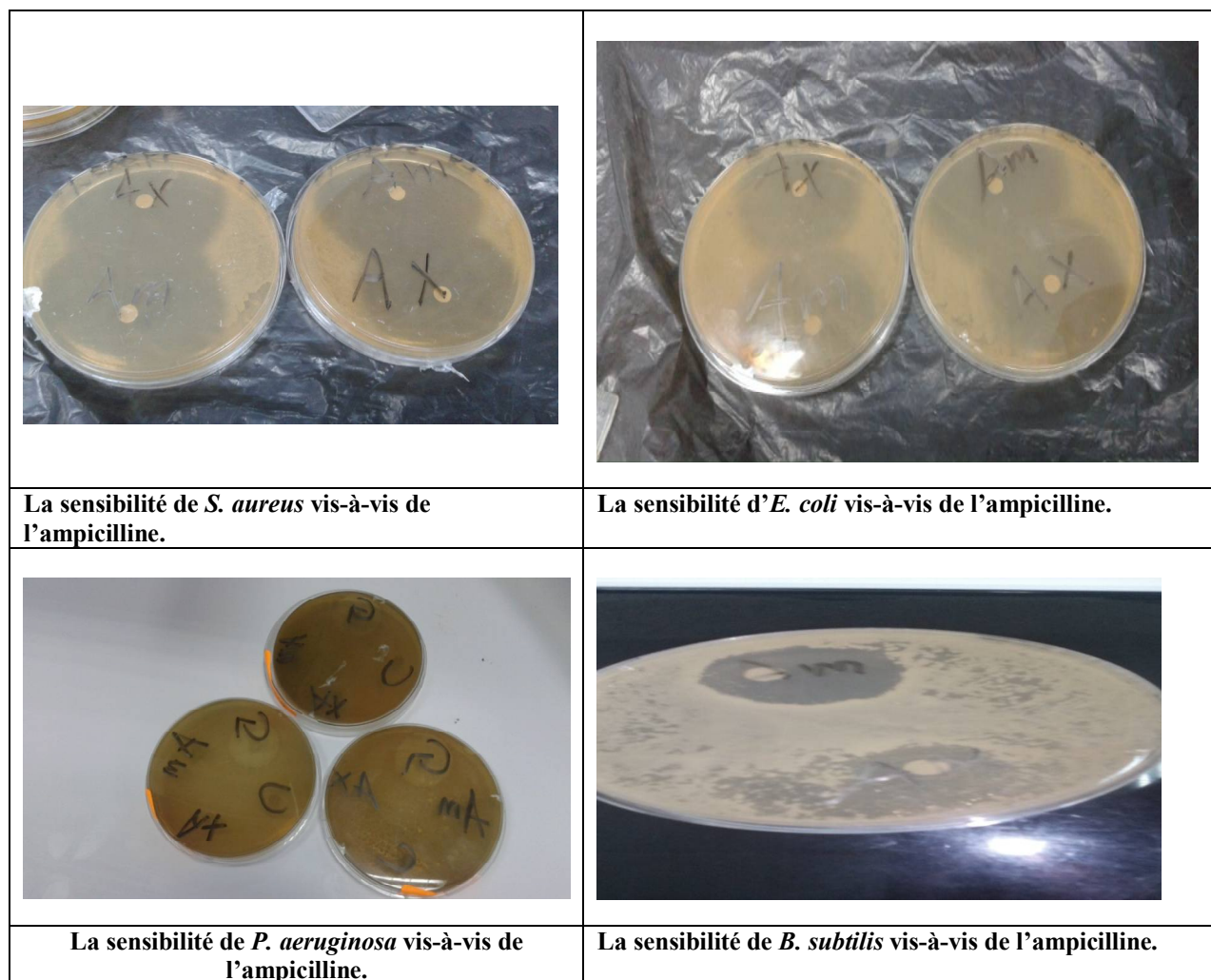


Figure 18 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis de l'Ampicilline.

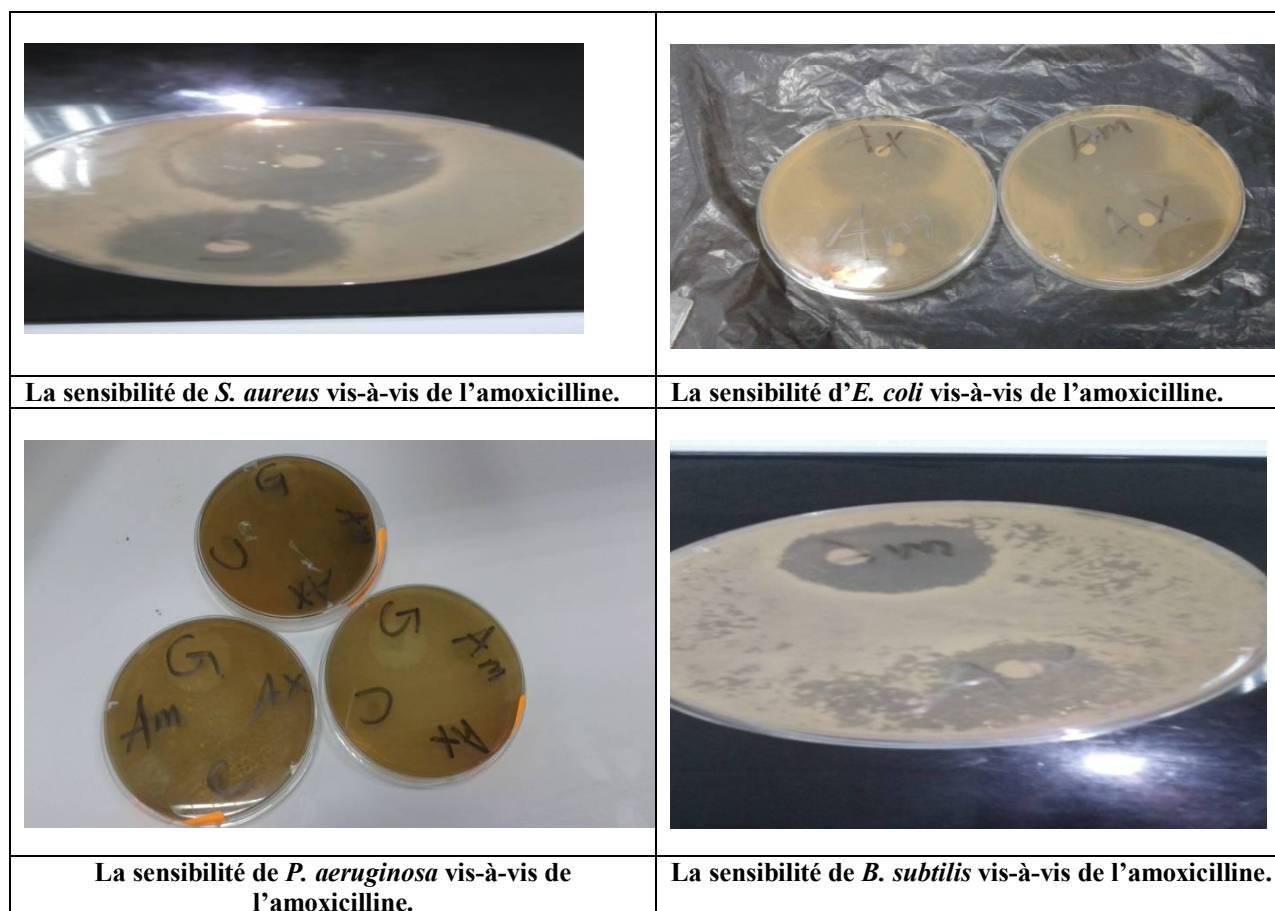


Figure 19 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis de l'Amoxicilline.

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de l'antibiotique. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un antibiotique à un autre.

Nos résultats ont montré que tous les antibiotiques ont eu une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des différentes souches bactérienne testées (*E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*) avec un diamètre d'inhibition allant de 19 à 58 mm. Cependant, une résistance a été observée pour la souche *P. aeruginosa* avec l'ampicilline, l'amoxicilline et le Céfazoline.

P. aeruginosa manifeste une résistance naturelle (Bencheqroun *et al.*, 2012). elle est capable de s'adapter à des environnements très divers en raison de sa très grande plasticité génétique (Mesaros *et al.*, 2007). Elle est capable de résister aux antibiotiques, soit de façon

native (par l'expression constitutive de β -lactamase et/ou de pompes à efflux, ou en raison d'une faible perméabilité de la membrane externe) (Aubron *et al.*, 2005; Masterton *et Turner*, 2006). soit suite à l'exposition aux antibiotiques (acquisition de gènes codant pour des enzymes détruisant les antibiotiques, surexpression de pompes à efflux associées ou non à une diminution de l'expression des porines, mutation de cibles...) (Poole, 2004 ; Dalhoff *et al.*, 2006 ; Mesaros *et al.*, 2007).

La résistance aux Ampicilline et Amoxicilline est due à la production d'une pénicillinase à bas niveau, alors que la résistance au Céfazoline est principalement due à l'acquisition d'un gène *cat* codant pour une enzyme, le chloramphénicol acétyltransférase (Caurvalin *et al.*, 2006).

III-3- L'aromatogramme

Au cours de nos investigations, l'activité antimicrobienne a été évaluée en observant le pouvoir inhibiteur de nos échantillons d'huiles essentielles des quatre espèces étudiées sur les bactéries.

À l'instar de ce qu'on a fait avec les antibiotiques sur l'antibiogramme, on a mesuré les zones d'inhibition autour des disques imprégnés avec 10 μ l de chaque huile essentielle testée et déposés dans des boîtes ensemencées préalablement avec les mêmes souches utilisées dans l'antibiogramme.

Les résultats du pouvoir antibactérien des huiles essentielles testées sont récapitulés dans le (tableau 7) et illustrés dans les (figures 20-23).

Tableau 7: Résultats de l'aromatogramme des quatre HE testées sur quatre souches bactériennes.

Bactéries	<i>P. scoparius</i>		<i>J. thurifera</i>		<i>S. africana</i>		<i>H. cheirifolia</i>	
	M \pm ET		M \pm ET		M \pm ET		M \pm ET	
<i>S. aureus</i>	27,66 \pm 1,52	+++	27,33 \pm 0,58	+++	29 \pm 1	+++	29.66 \pm 1,53	+++
<i>E. coli</i>	27 \pm 1	+++	24 \pm 1	+++	29,27 \pm 0.58	+++	17 \pm 1	++
<i>P. aeruginosa</i>	12 \pm 1	+	6 \pm 0	-	12.33 \pm 2.08	+	6 \pm 0	-
<i>B. subtilis</i>	39 \pm 1	+++	6 \pm 0	-	15 \pm 1	++	6 \pm 0	-
M=moyenne, ET=Ecarype, (+)=sensible, (++)=très sensible, (+++)=Extrêmement sensible, (-)=Non sensible.								



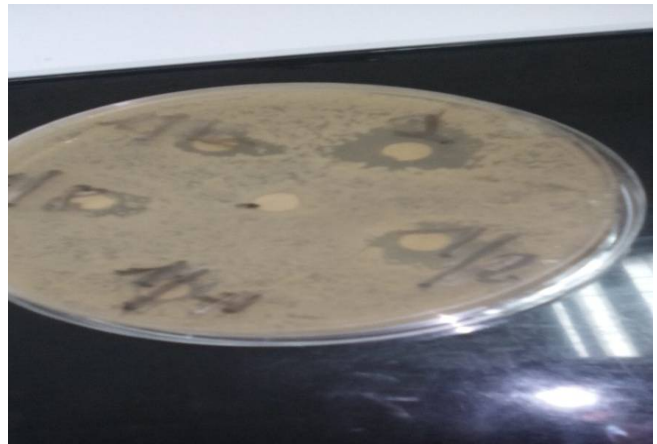
La sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis l'HE de *P. scoparius*



La sensibilité d'*E. coli* vis-à-vis de l'HE de *P. scoparius*



La sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis de l'HE de *P. scoparius*.



La sensibilité de *B. subtilis* vis-à-vis de l'HE de *P. scoparius*

Figure 20 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis de l'huile essentielle de *P. scoparius*.

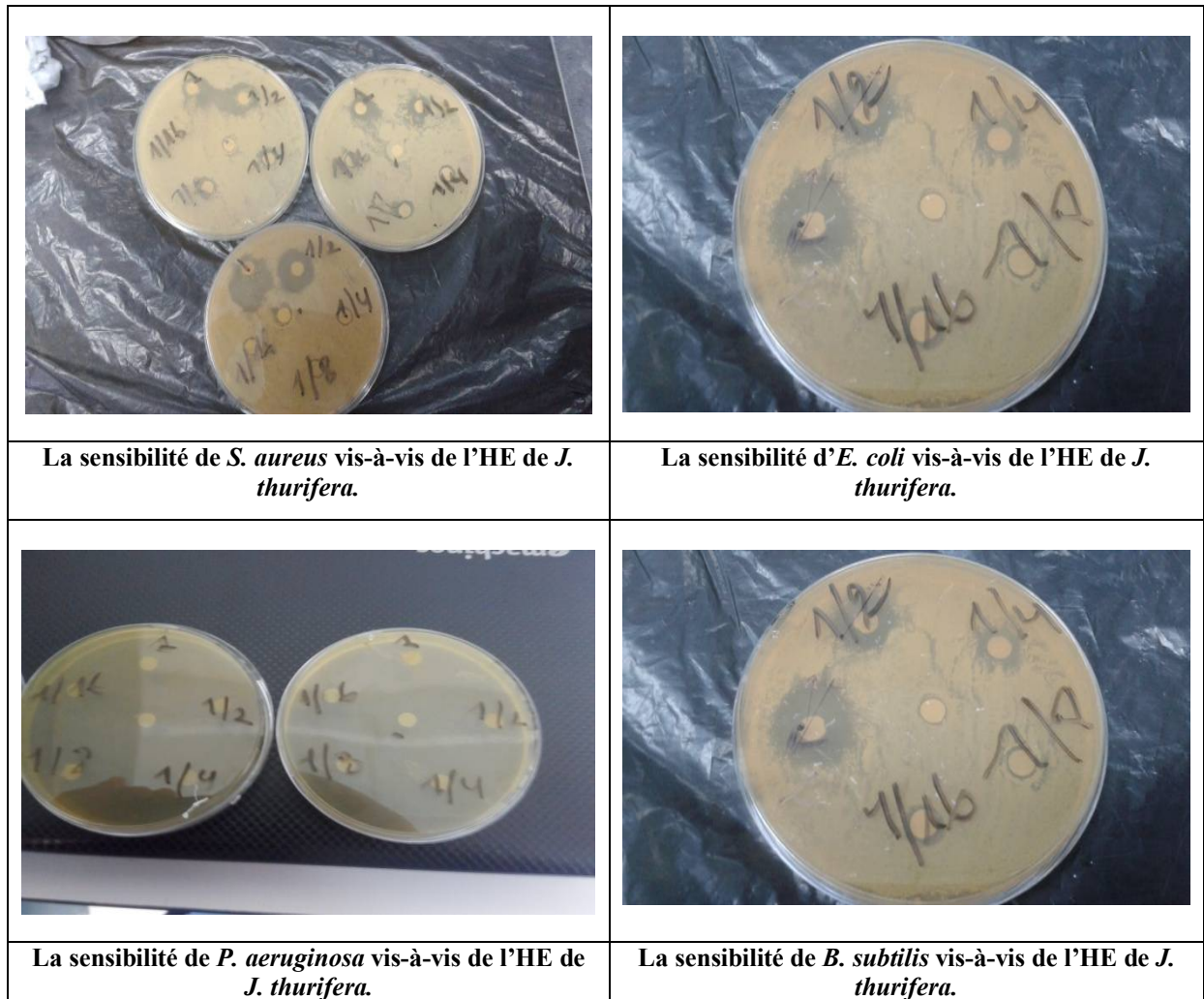


Figure 21 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis du *J. thurifera*.

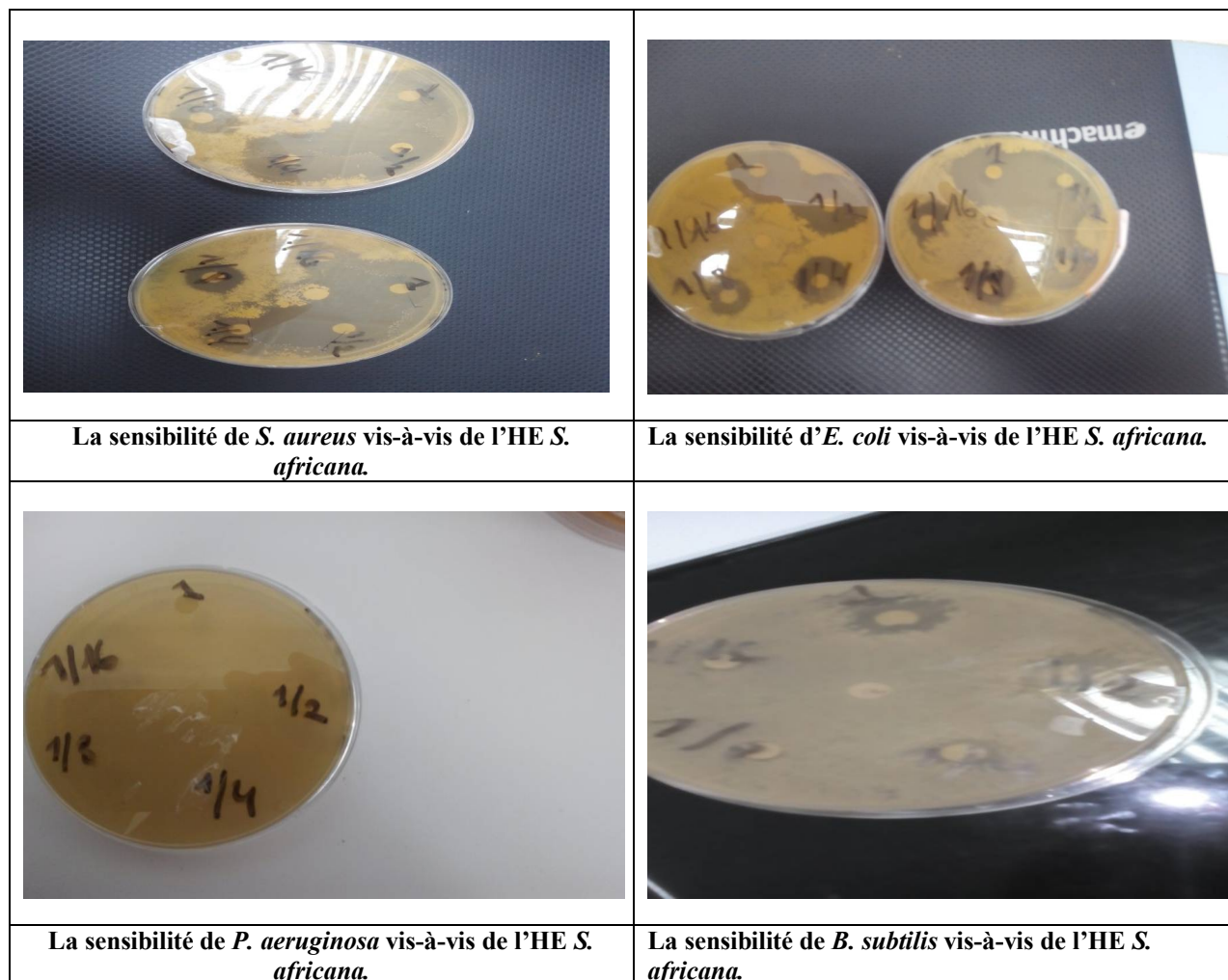


Figure 22: Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis de l'huile essentielle de *S. africana*.

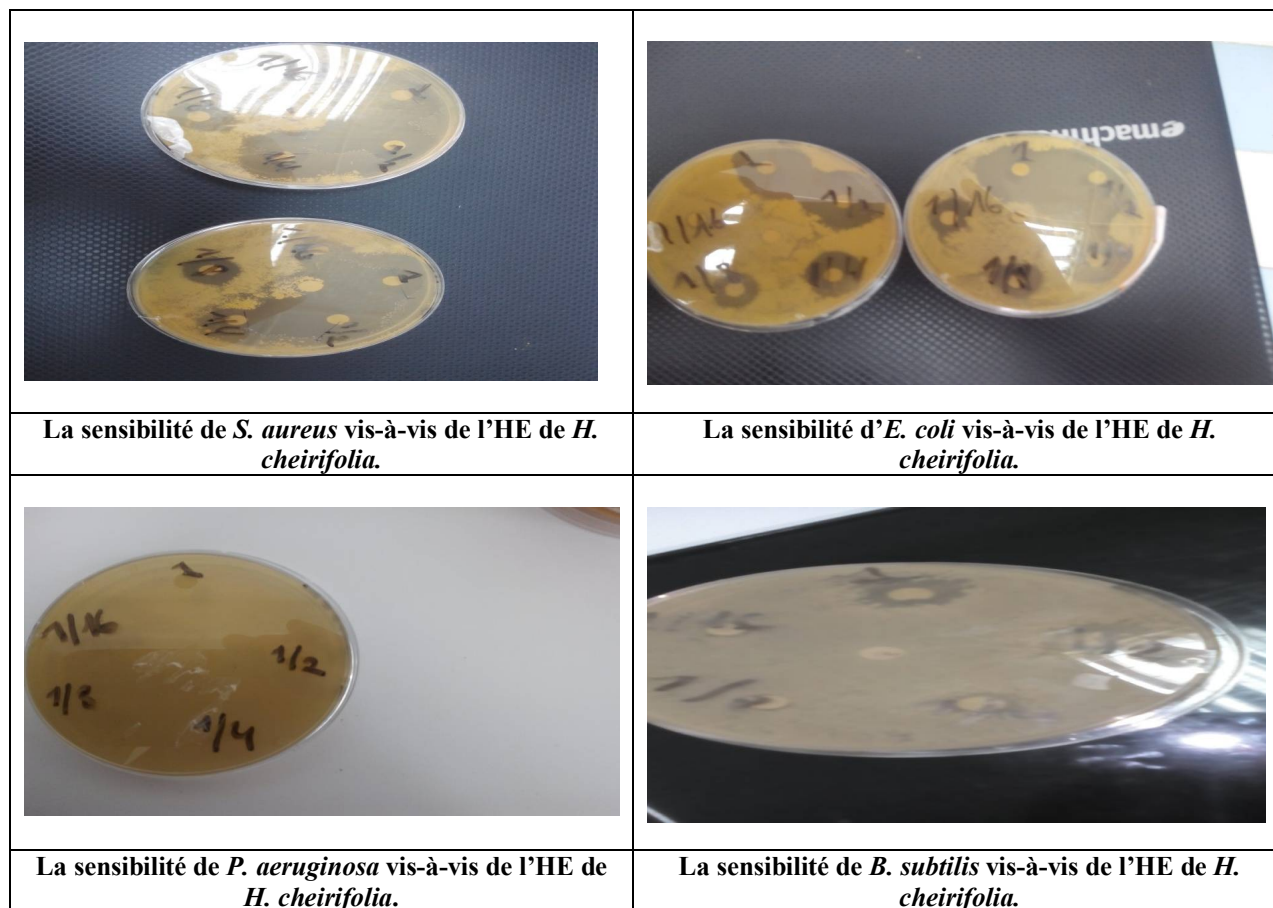


Figure 23 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis de l'huile essentielle de *H. cheirifolia*.

Les huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* et *Santolina africana* présentent une importante activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries testées tandis que les huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et *Hertia cheirifolia* ont un effet antibactérien important sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, cependant, elles n'ont aucun effet sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*.

L'activité des huiles essentielles est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Evalués séparément sous la forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable. Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique. De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à son «*totum* », c'est-à-dire dans l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires. Certaines études ont montré que l'activité des huiles essentielles est supérieure à celle de ses composés majoritaires testés séparément (Lahlou, 2004).

Les huiles essentielles disposent d'une variété d'activités biologiques (antibactérienne, antiseptiques,..) et cela revient à leur richesse en composés terpéniques porteurs de divers groupes fonctionnels (alcools, carbonyles,...) et à leurs effets synergiques entre eux (**Jaime et al., 2004; Sienkiewics et al., 2011**). L'activité de ces molécules est liée, à la fois, au caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et au caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées (**Skomen et al., 2003; Pjeroqan et al., 2009; Bencheqroun et al., 2012**).

III-4- L'effet du test de la combinaison

Le test de combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques a été effectué dans deux étapes, la première est de rechercher la concertation des huiles essentielles la plus adéquate, dans la deuxième étape l'huile est combinée avec l'antibiotique.

Les résultats de l'activité antibactérienne des différentes dilutions des huiles essentielles (allant de 1/2 jusqu'à 1/16) sont illustrés dans le (**tableau 8**).

Tableau 8: Résultats de l'activité antibactérienne des dilutions des huiles essentielles.

Espèce végétale	Souche Bactérienne	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>P. scoparius</i>	<i>E. coli</i>	21,67±1,52	11,67±1,52	10,33±0,57	6±0
	<i>S. aureus</i>	24,5±1	15±1	12,67±0,57	6±0
	<i>P. aeruginosa</i>	8,33±0,57	6±0	6±0	6±0
	<i>B. subtilis</i>	22,67±0,57	11±1	6±0	6±0
<i>J. thurifera</i>	<i>E. coli</i>	13±1	10,33±0,57	8±0,57	6±0
	<i>S. aureus</i>	25,33±1,15	15±1	12±1	7±1
	<i>P. aeruginosa</i>	6±0	6±0	6±0	6±0
	<i>B. subtilis</i>	6±0	6±0	6±0	6±0
<i>S. africana</i>	<i>E. coli</i>	24±2	21,67±0,57	11,67±1,52	10±1
	<i>S. aureus</i>	24,33±1,52	15±1	12,33±0,57	8,67±0,57
	<i>P. aeruginosa</i>	7,67±0,57	6±0	6±0	6±0
	<i>B. subtilis</i>	14±1	11,33±1,15	8±1	6±0
<i>H. cheirifolia</i>	<i>E. coli</i>	14,67±0,57	8±1	6,67±0,57	6±0
	<i>S. aureus</i>	15,33±1,52	12,67±0,57	6±0	6±0
	<i>P. aeruginosa</i>	6±0	6±0	6±0	6±0
	<i>B. subtilis</i>	6±0	6±0	6±0	6±0

Les zones d'inhibition enregistrées dépendent de la concentration des huiles essentielles testées. Les plus faibles valeurs ont été obtenues avec la concentration 1/4 et 1/8. Cependant, aucune zone d'inhibition n'a été observée avec la concentration 1/16 pour toutes les huiles essentielles, et avec toutes les concentrations des HE de *Hertia cheirifolia* et *Juniperus thurifera* vis-à-vis de *P. aeruginosa* et *B. subtilis*.

Les concentrations choisies sont mentionnées et soulignées en gras. On a choisi de combiner l'huile brute pour tester la sensibilité de *P. aeruginosa*, et les huiles qui n'ont pas d'activité antibactérienne.

Le test de la combinaison a été effectué en combinant les huiles essentielles selon les concentrations désirées avec les quatre antibiotiques. Les résultats de ce test sont récapitulés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9 : Les résultats du test de la combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques.

HE.	[C]	Souche	Ampicilline		Amoxicilline		Céfazoline		Gentamicine	
			EC	Effet	EC	Effet	EC	Effet	EC	Effet
<i>P. scoparius</i>	1/4	<i>E. coli</i>	1.66	Ant	1.17	Ant	1.46	Ant	1	Add
	1/8	<i>S. aureus</i>	1.31	Ant	1.15	Ant	1.24	Ant	0.87	Syn
	pure	<i>P. aeruginosa</i>	PZI	Ant	PZI	Ant	PZI	Ant	1	Add
	1/4	<i>B. subtilis</i>	1.21	Ant	1.8	Ant	1	Add	1.22	Ant
<i>J. thurifera</i>	1/4	<i>E. coli</i>	1.67	Ant	3.16	Ant	1.23	Ant	0.95	Syn
	1/8	<i>S. aureus</i>	1.32	Ant	1.35	Ant	1.54	Ant	0.86	Syn
	pure	<i>P. aeruginosa</i>	PZI	Ant	PZI	Ant	PZI	Ant	0.82	Syn
	pure	<i>B. subtilis</i>	1	Add	0.68	Syn	1	Add	0.83	Syn
<i>S. africana</i>	1/8	<i>E. coli</i>	1	Add	1	Add	1.24	Ant	1	Add
	1/8	<i>S. aureus</i>	1	Add	1	Add	1.42	Ant	0.78	Syn
	pure	<i>P. aeruginosa</i>	0.94	Syn	1.41	Ant	1.41	Ant	0.93	Syn
	1/8	<i>B. subtilis</i>	1	Add	1.66	Ant	1.14	Ant	0.87	Syn
<i>H. cheirifolia</i>	1/4	<i>E. coli</i>	1.55	Ant	1.75	Ant	1.35	Ant	0.96	Syn
	1/4	<i>S. aureus</i>	1.60	Ant	1.73	Ant	1.47	Ant	1.20	Ant
	pure	<i>P. aeruginosa</i>	PZI	Ant	PZI	Ant	PZI	Ant	0.88	Syn
	Pure	<i>B. subtilis</i>	0.85	Syn	0.92	Syn	1	Add	0.97	Syn

HE=huile essentielle, **[C]**= concentration de l'huile essentielle utilisée, **EC**= effet de la combinaison des huiles essentielles, **Ant**=effet antagoniste, **Add** =effet additif, **Syn**=effet synergique, **PZI**=pas de zone d'inhibition

L'effet de la combinaison des huiles essentielles testées avec les antibiotiques varie entre addition, synergie et antagonisme (**Mandalari et al., 2007**). La combinaison des huiles de *P.*

scoparius avec l'Ampicilline, l'Amoxicilline et le Céfazoline a un effet antagoniste avec presque toutes les bactéries par contre la combinaison de cette huile avec la Gentamicine a un effet synergique sur *S. aureus* et un effet additif vis-à-vis de *E. coli* et *P. aeruginosa*.

La combinaison de la gentamicine avec les huiles essentielles de *J. thurifera*, *S. africana* et *H. cheirifolia* a manifesté un effet synergique à l'exception de la combinaison avec *S. africana* sur l'*E. Coli* qui a donné un effet additif, et la combinaison avec *H. cheirifolia* sur *S. aureus* qui a donné un effet antagoniste.

Le même résultat a été rapporté dans les travaux de **Rosato et al. (2010)**, qui ont testé l'effet de l'association des huiles essentielles de quelques espèces avec la gentamicine.

L'effet antagoniste a été observé sur la combinaison de Céfazoline, l'amoxicilline et l'ampicilline avec les huiles essentielles de *J. thurifera* et *H. cheirifolia* sur l'*E. Coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*, et sur l'association des huiles essentielles de *S. africana* avec le Céfazoline sur toutes les souches testées. L'effet additif a été observé aussi dans cette étude.

Ces résultats peuvent être dus à la composition des huiles essentielles et celle des antibiotiques et leurs effets entre eux (**Rhayour, 2002; Fadli et al., 2012; khadir, 2013**).

Conclusion et perspectives



Conclusion

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antibactériens des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales de la région de l'Aurès, seules et en combinaison avec les antibiotiques. Ces huiles essentielles sont extraites de quatre espèces endémiques Nord africaines à savoir : *Pituranthos scoparius*, *Juniperus thurifera*, *Santolina africana* et *Hertia cheirifolia* par hydrodistillation (entraînement à la vapeur d'eau et en contacte directe).

L'activité antibactérienne a été appréciée notamment sur des souches bactériennes de référence et connues comme pathogènes pour l'être humain: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*.

Les huiles essentielles testées montrent une activité biologique intéressante sur toutes les souches testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui a manifesté une résistance vis-à-vis des huiles essentielles d'*Hertia cheirifolia* et *Juniperus thurifera*.

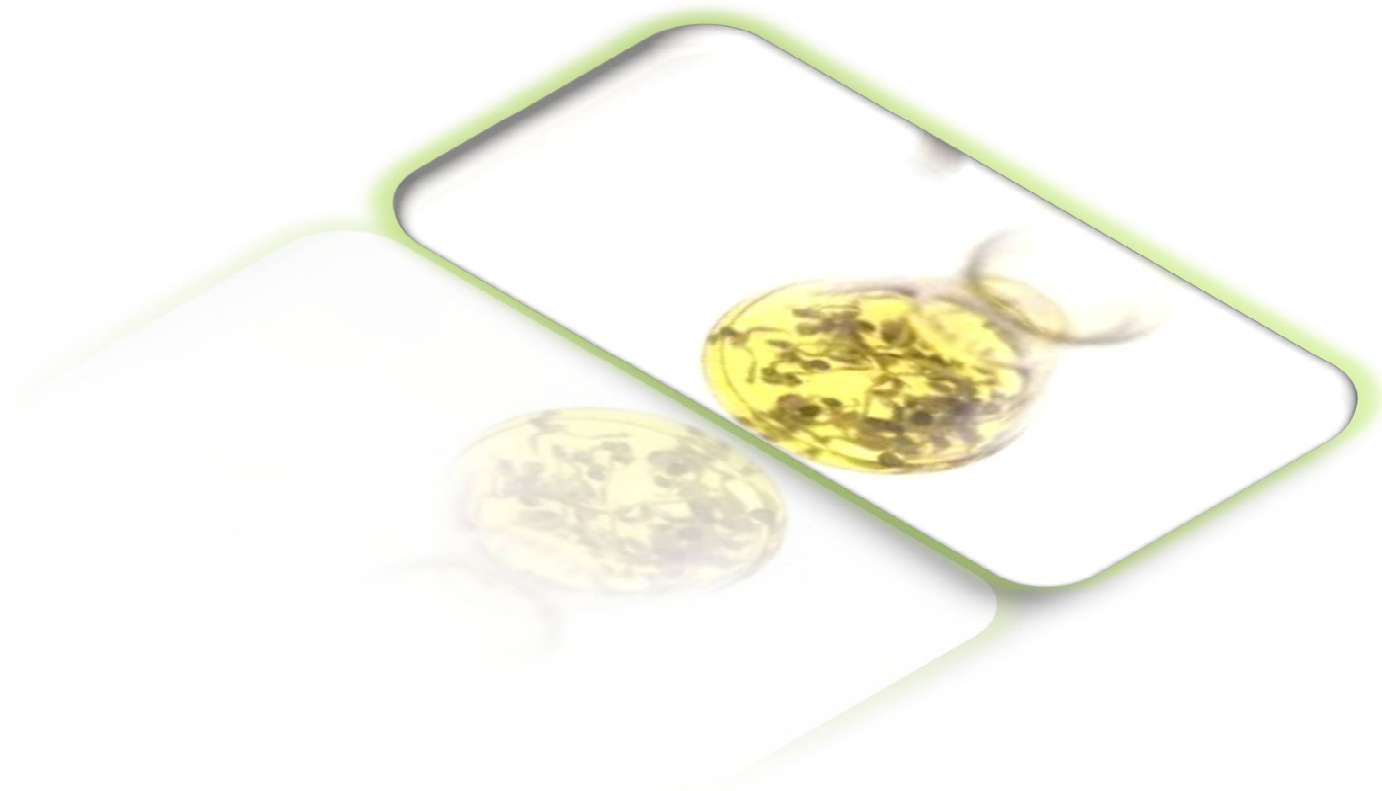
Du fait de la présence de ces effets, il est possible d'utiliser les huiles essentielles comme substitution des antibiotiques pour les éviter effets indésirables de ces derniers.

L'association des huiles essentielles avec les antibiotiques a montré un effet synergique important surtout avec la gentamicine/huiles essentielles. Ces résultats nous permettent de conclure qu'on peut combiner certaines huiles avec les antibiotiques, ce qui peut réduire la dose efficace de ces derniers et minimiser leurs effets secondaires.

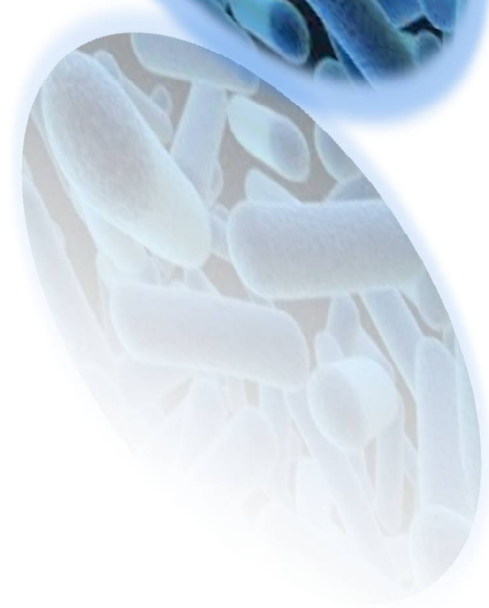
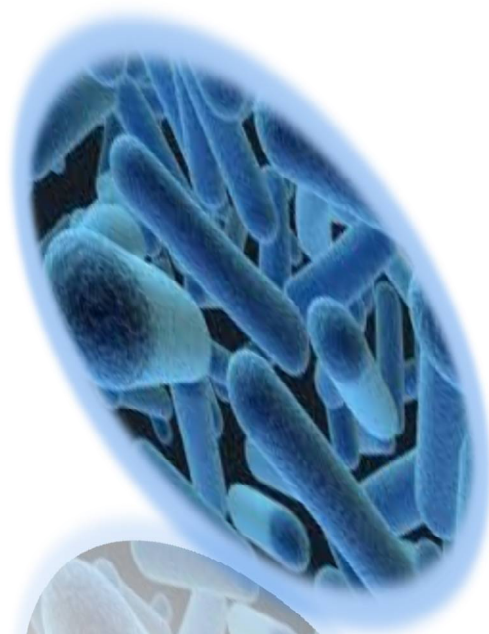
Des tests *in vivo* sont nécessaires pour évaluer le potentiel de cette combinaison à des fins thérapeutiques.

Nous ajoutons que des études sur l'association d'antibiotiques avec des huiles essentielles connues par leur pouvoir antibactérien sont vivement recommandées afin d'aller plus loin dans la recherche concernant ce domaine prometteur.

*Référence
bibliographique*



Résumé



Résumé

L'objectif de cette contribution est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles seules et en combinaison avec les antibiotiques. Les huiles essentielles de quatre espèces, *Hertia cheirifolia*, *Santolina africana*, *Pituranthos scoparius* et *Juniperus thurifera* ont été testées sur quatre souches bactériennes de référence: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC ; 21332. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922. Les résultats montrent que toutes les huiles essentielles testées manifestent une très bonne activité vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et l'*Escherichia coli*. Cependant, les souches bactériennes *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* montrent une résistance vis-à-vis les huiles d'*H. Cheirifolia* et *J. thurifera*. L'association des huiles essentielles avec les antibiotiques a montré un effet synergique avec la gentamicine/huiles essentielles.

Mots clés : huile essentielle, antibiotique, activité antibactérienne, synergie

المخلص

الهدف من هذه المساهمة تقييم النشاط المضاد للزيت الأساسية وحدها و مع المضادات ، الاختبار تم على اربعة انواع من الزيوت الأساسية أرسيا شري فوليا *Hertia cheirifolia* وبيترنتوس سكوباريوس *Pituranthos scoparius* ، *Santolina africana* سانتولينا افري كانا، *Juniperus thurifera* على اربع انواع من البكتيريا المرجعية أي تي سي سي عسيات ، 25923 أي تي سي سي المكورات العنقودية الذهبية: البكتيرية المرجعية أربع سلالات. أي تي سي 27853 سي سي اختبار الأساسية جميع الزيوت وتبين النتائج أن 25922 . أي تي سي سي والقولونية الزانفة الزنجارية 21332 . والزانفة الزنجارية العسوية الرقيقة ومع ذلك، القولونية والإشريكية المكورات العنقودية الذهبية الأعمال لوجه وجها جدا جيدة تظهره الزيوت من وجها لوجه المقاومة تظهر السلالات البكتيرية *cheirifolia* . وجيهه *thurifera* مع الزيوت العطرية مزيج من أظهر. الزيوت الأساسية / الجنتاميسين مع تأثير متناغم المضادات الحيوية

الكلمات المفتاحية : الزيوت الأساسية، المضادات، تأثير متناغم

Abstract

The aim of this contribution is to evaluate the antibacterial activity of essential oils alone and in combination with antibiotics. Essential oils of four species, *Hertia cheirifolia*, *Santolina africana*, *Pituranthos scoparius* and *Juniperus thurifera* were tested on four bacterial strains of references (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC ;21332. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922). The results show that all essential oils tested exhibit a very good activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. However, the bacterial strains, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* show resistance against the *H. cheirifolia* and *J. thurifera* oils. The combination of essential oils with antibiotics showed a synergistic effect with gentamicin/ essential oils.

Keywords: essential oils, antibiotic, antibacterial activity, synergy