



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

BENZAÏM Soufiane

Thème

***Étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles
de deux plantes médicinales Rosmarinus officinalis L et
Artemisia herba alba et l'effet de leurs associations avec
les antibiotiques***

Devant le jury :

Présidente : Dr. AROUA Khaoula MCB Université de Khenchela

Promotrice : Dr. MELLAL Hanane MCB Université de Khenchela

Examinatrice : Dr. NAILI Oumaima MCA Université de Khenchela

2023/2024

Remerciements

Mes remerciements s'adressent premièrement et avant tout à **ALLAH**. Tout puissant, qui m'a aidé à réaliser ce travail, et pour sa grâce tout au long de ma vie professionnelle et personnelle.

Mes sincères remerciements à Madame MELLAL Hanane ma promotrice, qui a accepté de me diriger et m'a accordé tout son intérêt et sa patience, sa présence, ses précieux conseils et ses encouragements qu'elle m'a prodigués tout au long de ce message. Je la remercie encore plus de m'avoir fait confiance pour réaliser ce travail. Vous trouverez ici un certificat de profonde gratitude. Mes profonds remerciements s'adressent à Dr. AROUA Khaoula pour l'honneur qu'elle m'a fait de présider ce jury.

J'adresse aussi mes plus vifs remerciements à Dr. NAILI Oumaima d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et d'accepter de l'examiner, Je suis très honoré de sa présence dans ce jury.

Ainsi je n'oublie pas de remercier les enseignants qui m'ont apporté le soutien moral et de m'ont facilité de nombreuses tâches surtout Mme CHORFI Rafika responsable du hôte technologique dans le complexe de laboratoires et l'ingénieur de laboratoire de microbiologie Mme MIZANE Sarah.

Mes remerciements à ceux et celle qui m'ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Sans oublier l'ensemble de mes camarades ainsi qu'à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin



Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

A la mémoire de mes chers parents Noura LEBNANE et Salim, ainsi qu'à mon cher grand père paternel Mihoub qui ont tout fait pour moi pour réussir que Dieu les garde dans son vaste paradis

A ma chère épouse Zineb CHIEUL pour son indéfectible soutien moral et ces conseils précieux et à sa patience infinie et qui m'a supportée dans les moments difficiles tout au long de mes études.

A mes chers enfants Nouh et Rafi Salim qui m'ont entouré d'amour et de joie et qui ont toujours été le moteur de motivation de tout perfectionnement dans mon parcours.

A mes frères Iskandar et Yacine et ma sœur Katia Khadija.

A tous les enseignants de la faculté de sciences de la nature et de la vie à leur tête Dr. Hanane MELLAL pour l'accompagnement et encadrement pédagogique dans les meilleures conditions.

A mes chères amis et collègues: Aïmed Edinne OUADI, Fouzi OUNISSI, Salah SENOUCI, Kamel NOUCER, Saida BOUFENARA, Wissam LAAJAL.. Pour leurs conseils et orientations.

Et à tous ceux qui nous sont chers.

Soufiane

Étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de deux plantes médicinales *Rosmarinus officinalis L* et *Artemisia herba alba* et l'effet de leurs associations avec les antibiotiques

Résumé

L'antibiorésistance et l'émergence récente des bactéries multirésistantes représentent un danger permanent pour la santé publique, de par leur diffusion rapide et la difficulté que rencontrent les médecins pour le traitement des infections provoquées par ces bactéries. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles issues de deux plantes aromatiques locales (*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis L*) et leurs associations avec des antibiotiques de différentes familles sur des souches microbiennes de références (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Bacillus cereus* ATCC 11778 et *Aspergillus niger* 2CA936) et une souche clinique *Candida albicans*. L'aromatogramme en milieu solide (méthodes des disques) a été utilisé pour évaluer l'activité de ces huiles essentielles ainsi que les associations huiles essentielles /antibiotiques. Les résultats d'activité antimicrobienne ont montré une forte activité pour l'huile d'*Artemisia herba alba* sur toutes souches, et une activité plus modérée pour l'huile de *Rosmarinus officinalis L*. Quant aux tests d'interaction entre les huiles et les antibiotiques, deux types d'interactions sont observés lors de l'association HEs/ATBs (indifférentes et synergiques), les interactions synergiques concernent les deux plantes avec la majorité des souches testées. L'utilisation des huiles essentielles en combinaison avec les antibiotiques pourrait être faite une alternative à l'utilisation excessive des antibiotiques en thérapeutique pour traiter les infections à germes multirésistants.

Mots clés : Activité antibactérienne, Huiles essentielles, *Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis L*, Association HEs/ATBs.

Study of the antimicrobial potential of essential oils of two medicinal plants Rosmarinus officinalis L and Artemisia herba alba and the effect of their associations with antibiotics

Abstract

Antibiotic resistance and the recent emergence of multidrug-resistant bacteria represent a permanent danger to public health because of their rapid spread and the difficulty that doctors have in the treatment of the infection caused by these bacteria. The goal of this study is to evaluate the antibacterial activity of essential oils from two local aromatic plants (*Artemisia herba alba* Asso and *Rosmarinus officinalis* L) and their associations with different family of antibiotics against six reference microbial strains (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Bacillus cereus* ATCC 11778 and *Aspergillus niger* 2CA936) and a clinical strain *Candida albicans*. The aromatogram (disks methods) was used to evaluate the activity of these essential oils, as well as the essential oil/antibiotic associations. The antimicrobial activity results showed strong activity for *Artemisia herba alba* Asso oil on all strains, and more moderate activity for *Rosmarinus officinalis* L oil. Meanwhile the interaction tests between oils and antibiotics, two types of interactions were observed during the HEs/ATBs association (indifferent and synergistic), the synergistic interactions concern the two plants with the majority of the strains tested. The use of essential oils in combination with antibiotics could therefore be an alternative to the excessive use of antibiotics in therapy to treat multidrug-resistant germ infections.

Keywords: Antibacterial activity, Essential oils, *Artemisia herba alba* Asso. *Rosmarinus officinalis* L, Association HEs/ATBs.

دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للزيوت العطرية المستخلصة من النباتين الطبيين الشيح واكليل الجبل، وتأثير ارتباطهما بالمضادات الحيوية

الملخص

تمثل مقاومة المضادات الحيوية وظهور البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة في الآونة الأخيرة خطراً دائماً على الصحة العامة بسبب انتشارها السريع والصعوبة التي يواجهها الأطباء في علاج العدوى التي تسببها هذه البكتيريا. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا للزيوت العطرية المستخلصة من النباتين العطريين المحليين (الشيح *Artemisia herba alba* Asso و نبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis L*) وارتباطاتها مع عائلات مختلفة من المضادات الحيوية ضد ستة سلالات ميكروبية مرجعية (*Bacillus cereus* ATCC ، *Aspergillus niger* 2CA936 ، *Staphylococcus* ، *Escherichia coli* ATCC 25922 *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 ، 11778 *Candida albicans* ATCC 29213 ، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) والسلالة السريرية *Candida albicans*، تم استخدام طريقة الأقراص لتقييم نشاط هذه الزيوت العطرية، بالإضافة إلى ارتباطات الزيوت العطرية مع المضادات الحيوية. أظهرت نتائج الفعالية المضادة للميكروبات نشاطاً قوياً لزيوت الشيح *Artemisia herba alba* Asso على جميع السلالات، ونشاطاً أكثر اعتدالاً لزيوت اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis L* وفي اختبارات التفاعل بين الزيوت والمضادات الحيوية، لوحظ نوعان من التفاعلات خلال ارتباط الزيوت والمضادات (HEs/ATBs) (غير مبال وتآزري)، التفاعلات التآزرية تتعلق بالنباتين مع غالبية السلالات التي تم اختبارها. وبالتالي فإن استخدام الزيوت العطرية مع المضادات الحيوية يمكن أن يكون بديلاً للاستخدام المفرط للمضادات الحيوية في علاج الالتهابات الجرثومية المقاومة للأدوية المتعددة.

الكلمات المفتاحية: الفعالية المضادة للبكتيريا، الزيوت العطرية، *Rosmarinus officinalis L*، ارتباط الزيوت والمضادات الحيوية.

Table de matières

Résumé en Français
Résumé en Anglais
Résumé en Arabe
Table des Matières
Liste des Tableaux
Liste des Figures
Liste des Photographies
Liste des Abréviations

Introduction générale..... 01

Partie I. Synthèse bibliographique

I – Généralité sur le romarin (*Rosmarinus officinalis L*)

| | |
|---|---|
| I.1. Historique..... | 0 |
| | 3 |
| I.2. Habitat..... | 0 |
| | 3 |
| I. 3. Classification botanique de la plante..... | 0 |
| | 4 |
| I. 4. Description botanique..... | 0 |
| | 4 |
| I. 5. La croissance et le développement de la plante..... | 0 |
| | 5 |
| I. 6.La composition chimique..... | 0 |
| | 6 |
| I. 7.Utilisation de la plante..... | 0 |
| | 7 |
| I. 7.1. Usage culinaire..... | 0 |
| | 7 |
| I. 7.2. Agriculture..... | 0 |
| | 7 |
| I. 7.3. Industrie alimentaire..... | 0 |
| | 8 |
| I. 7.4. Industrie de parfumerie..... | 0 |
| | 8 |
| I. 7.5. Utilisations cosmétiques..... | 0 |
| | 8 |

II- Généralités sur l' *Artemisia herba-alba* Asso

Table des Matières

| | |
|---|---|
| II.1.Habitat et répartition géographique..... | 0 |
| | 9 |
| II.2.Identité vernaculaire..... | 1 |
| | 0 |
| II.3.Classification botanique de la plante..... | 1 |
| | 0 |
| II. 4.Description botanique de la plante..... | 1 |
| | 0 |
| II. 4.1. Partie aérienne..... | 1 |
| | 0 |
| II. 4.1.1. Tige..... | 1 |
| | 0 |
| II. 4.1.2. Feuille..... | 1 |
| | 0 |
| II. 4.1.3. Fleurs..... | 1 |
| | 0 |
| II.4.2. Partie souterraine ou racine..... | 1 |
| | 1 |
| II.5. Composition chimique de la plante..... | 1 |
| | 1 |
| II.6. Utilisation de la plante..... | 1 |
| | 2 |
| II.6.1. Utilisation traditionnelle et médicinale..... | 1 |
| | 2 |
| II.6.2. Utilisation alimentaire..... | 1 |
| | 2 |
| II. 6.3. Utilisation et intérêts socioéconomique..... | 1 |
| | 2 |

III- Les huiles essentielles

| | |
|---|---|
| III.1. Composition chimique..... | 1 |
| | 3 |
| III. 1.1. Les terpènes..... | 1 |
| | 3 |
| III. 1.2. Les composés aromatiques..... | 1 |
| | 4 |
| III. 2. Site de localisation des huiles essentielles..... | 1 |
| | 4 |
| III. 3. Fonction des huiles essentielles dans la plante..... | 1 |
| | 4 |
| III. 4. Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles..... | 1 |
| | 5 |
| III. 4.1. Propriétés physiques..... | 1 |
| | 5 |
| III. 4.2. Propriétés chimiques..... | 1 |
| | 5 |
| III. 5. La conservation des huiles essentielles..... | 1 |
| | 5 |

Table des Matières

| | |
|--|---|
| III.6. Mode d'obtention des huiles essentielles..... | 1 |
| | 6 |
| III. 6.1. Hydrodistillation..... | 1 |
| | 6 |
| III.6.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau. | 1 |
| | 7 |
| III. 6.3. Distillation sèche | 1 |
| | 8 |
| III. 6.4. Expression à froid | 1 |
| | 8 |
| III. 6.5. Extraction assistée par micro-onde..... | 1 |
| | 9 |
| III. 7. La toxicité des huiles essentielles..... | 1 |
| | 9 |
| III.8. | |
| Mécanisme de l'action antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de Plantes..... | 1 |
| | 9 |
| III. 9. Domaines d'application des huiles essentielles du Romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>L</i>) et (<i>Artémisia herba alba Asso</i>)..... | 2 |
| | 0 |

Partie II. Matériel et méthodes

| | |
|---|---|
| 1. Objectif du travail..... | 2 |
| | 1 |
| 2. Matériel..... | 2 |
| | 2 |
| 2. 1. Matériel végétal..... | 2 |
| | 2 |
| 2.1.1. Extraction des huiles essentielles..... | 2 |
| | 2 |
| 2.1.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau..... | 2 |
| | 2 |
| 2.2. Milieux de culture..... | 2 |
| | 3 |
| 2.3. Matériel Biologique..... | 2 |
| | 4 |
| 2.3.1. Les souches microbiennes testées..... | 2 |
| | 4 |
| 2.4. Antibiotiques..... | 2 |
| | 4 |
| 3. Méthodes..... | 2 |
| | 5 |
| 3.1. Réactivation des souches microbiennes..... | 2 |
| | 5 |

Table des Matières

| | |
|--|----------|
| 3. 2. Préparation des dilutions des HEs..... | 2 |
| | 5 |
| 3. 3. Préparation de la suspension bactérienne..... | 2 |
| | 5 |
| 3. 4. Antibiogrammes des souches cibles..... | 2 |
| | 5 |
| 3. 5. Aromatogramme..... | 2 |
| | 6 |
| 3. 5. 1. Méthode des disques..... | 2 |
| | 6 |
| 3. 5. 2. Protocole expérimental..... | 2 |
| | 6 |
| 3. 5. 3. Dépôt des disques..... | 2 |
| | 6 |
| 3. 5. 4. Lecture..... | 2 |
| | 7 |
| 3. 6. Etude de l'association « huile essentielle / antibiotique » par la méthode des disques..... | 2 |
| | 7 |
| 3.7. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles..... | 2 |
| | 8 |
| 3. 7.1. Technique de dilution sur milieu solide..... | 2 |
| | 8 |
| Partie III. Résultats et Discussions | |
| I. Etude de l'activité antimicrobienne..... | 2 |
| | 9 |
| I.1. Effet de l'huile essentielle d'<i>Artemisia herba alba</i> sur la croissance des souches testées..... | 2 |
| | 9 |
| I.2. Effet de l'huile essentielle <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la croissance des souches testées..... | 3 |
| | 1 |
| II. Etude de l'activité antifongique..... | 3 |
| | 5 |
| II.1. Effet de l'huile essentielle d'<i>Artemisia herba alba</i> et <i>R. officinalis</i> sur la croissance d'<i>Aspergillus niger</i>..... | 3 |
| | 5 |
| III. Etude de l'association « huile essentielle/antibiotique »..... | 3 |
| | 7 |
| III. 1. L'antibiogramme..... | 3 |
| | 7 |
| III.2. Etude de l'association « huile essentielle/antibiotique »..... | 3 |
| | 8 |
| Conclusion et perspectives..... | 4 |
| | 5 |
| Références bibliographiques..... | 4 |
| | 6 |

Table des Matières

Annexes

Liste des Tableaux

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|-------------------|--|-----------|
| Tableau 1 | Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L | 04 |
| Tableau 2 | Composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L..... | 06 |
| Tableau 3 | Classification botanique de <i>Artemisia herba alba</i> Asso..... | 10 |
| Tableau 4 | Sources des souches microbiennes étudiées..... | 24 |
| Tableau 5 | Disque d'antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme..... | 24 |
| Tableau 6 | Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> | 29 |
| Tableau 7 | Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de différentes souches microbiennes en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle <i>Rosmarinus officinalis</i> | 31 |
| Tableau 8 | Effet des HEs d'A. <i>Herba alba</i> et <i>R. officinalis</i> sur la croissance d' <i>Aspergillus niger</i> | 35 |
| Tableau 9 | Résultats de l'antibiogramme vis-à-vis les souches à testées..... | 38 |
| Tableau 10 | Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> et de différents disques d'antibiotiques..... | 39 |
| Tableau 11 | Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle <i>Rosmarinus officinalis</i> et de différents disques d'antibiotiques..... | 40 |

Liste des Figures

LISTE DES FIGURES

| | | |
|------------------|---|-----------|
| Figure 1 | La plante de Romarin..... | 03 |
| Figure 2 | Racines de <i>Rosmarius officinalis</i> L..... | 04 |
| Figure 3 | L'organisation de la fleur de <i>Rosmarinus officinalis</i> L..... | 05 |
| Figure 4 | Fruit de <i>Rosmarinus officinalis</i> L..... | 05 |
| Figure 5 | Structure de quelques di terpènes phénoliques du Romarin..... | 07 |
| Figure 6 | Touffe d' <i>Artemisia herba-alba</i> | 09 |
| Figure 7 | Morphologie de la partie aérienne d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso..... | 11 |
| Figure 8 | Morphologie générale de plante d' <i>Artermisia herba alba</i> | 11 |
| Figure 9 | Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E..... | 13 |
| Figure 10 | Exemple de composés aromatiques dérivés du phénylpropane | 14 |
| Figure 11 | Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile..... | 17 |
| Figure 12 | Distillation par entrainement à la vapeur d'eau..... | 17 |
| Figure 13 | Schéma d'une installation de distillation sèche..... | 18 |
| Figure 14 | Mécanisme d'action et les cibles des HEs sur les cellules microbiennes . | 19 |
| Figure 15 | Principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur..... | 23 |
| Figure 16 | Représentation graphique des diamètres d'inhibition en mm des souches testées en présence de l'huile essentielle de l'armoise | 30 |

Liste des Figures

blanche.....

Représentation graphique des diamètres d'inhibition en mm des
Figure 17 souches testées en présence de l'huile essentielle de *Rosmarinus* **32**
officinalis.....

Liste des Photographies

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

| | | |
|-----------------------|---|--------|
| Photographie 1 | Complexe des laboratoires pédagogiques de la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma(Khenchela)..... | 2 1 |
| Photographie 2 | Les huiles essentielles de l'espèce <i>Artemisia herba alba</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> | 2 2 |
| Photographie 3 | Evaluation de la synergie (Huile essentielle / Antibiotique)..... | 2 8 |
| Photographie 4 | Effet des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> sur la levure <i>Candida albicans</i> | 3 2 |
| Photographie 5 | Effet des huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les souches <i>E. coli</i> (A,A1) <i>B. cerus</i> (B,B1) et <i>K. pneumoniae</i> (C)..... | 3 3 |
| Photographie 6 | Étude la croissance de <i>Aspergillus niger</i> sous effet d'huile essentielle de <i>R.officinalis</i> | 3 6 |
| Photographie 7 | Étude la croissance de <i>Aspergillus niger</i> sous effet d'huile essentielle d' <i>A.herba alba</i> | 3 6 |
| Photographie 8 | Images montrant les zones d'inhibition des souches bactériennes sous l'action de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> et différents disques d'antibiotiques..... | 4 3 |
| Photographie 9 | Images montrant les zones d'inhibition des souches bactériennes sous l'action de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> et différents disques d'antibiotiques..... | 4 4 |

Liste des Abréviations

LISTE DES ABRÉVIATIONS

| | |
|-----------------|---|
| ATCC | American Type Culture Collection..... |
| CMB | Concentration Minimale Bactéricide |
| CMI | Concentration Minimale Inhibitrice..... |
| DMSO | Diméthylsulfoxyde..... |
| HE /HEs | Huiles essentielle(s)..... |
| ATB/ATBs | Antibiotique (s)..... |
| UFC | Unité Formant Colonie..... |
| GN | Gélose nutritive..... |
| MH | Mueller-Hinton..... |
| PDA | Gélose dextrosée à la pomme de terre..... |
| DO | Densité optique..... |
| D | Diamètres d'inhibition..... |
| µl | Microlitre..... |
| Mg | Magnésium |
| Cr | Chrome |
| Na | Sodium..... |
| Sr | Strontium..... |
| Ca | Calcium..... |
| K | Potassium |
| Al | Aluminium..... |
| Fe | Fer..... |
| P | Phosphore |
| UF | Unité fourragère..... |
| MS | Taux Matière sèche..... |

Introduction

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (Amarti et *al.*, 2011)

Actuellement, plusieurs questions se sont soulevées concernant d'une part, l'efficacité et la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, en raison des effets secondaires des antioxydants et de la résistance que les micro-organismes pathogènes établissent contre les antibiotiques (Djeridane et *al.*, 2010 ; Yakhlefet *al.*, 2011)

Depuis la moitié du 20^{ème} siècle les bactéries multirésistantes représentent un véritable danger pour la santé publique. Selon l'OMS la résistance aux antibiotiques représente l'une des dix plus grandes menaces pour la santé publique auxquelles était confrontée l'humanité (Philippon, 2008 ; Kempf et *al.*, 2011).

Actuellement, la recherche s'oriente vers des alternatives moins couteuse et moins dangereuse pour la lutte des bactéries multirésistantes, pour la plupart le choix s'est porté sur l'utilisation des huiles essentielles ; celles-ci, sont des molécules naturellement présentes dans différentes parties des plantes et obtenues par divers méthodes d'extraction, elles possèdent un nombre de molécules naturelles complexes dont le pouvoir biologique est puissant contre la propagation de différents agents microbiens notamment les bactéries, virus et mycètes. (Bouyahya et *al.*, 2017)

Pour la même raison, aucune résistance particulière vis-à-vis des huiles essentielles n'a été décrite et il est important de souligner que certaines d'entre elle constituent des alternatives efficaces ou des compléments aux antibiotiques sans montrer le même effet secondaire (Amarti et *al.*, 2008 ; Rosato et *al.*, 2010).

De nombreuses études le plus souvent *in vitro* se sont intéressées à l'étude de l'association des antibiotiques et des huiles essentielles pour surmonter les problèmes de résistance et des effets secondaires associés aux médicaments. Ces recherches révèlent une synergie intéressante entre les antibiotiques et les huiles essentielles étudiées (Rosato et *al.*, 2010 ; Zafar et *al.*, 2010).

De ce fait, l'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso et *Rosmarinus officinalis*, contre six

souches microbiennes de références (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Bacillus subtilis* ATCC 11778 et *Aspergillus niger* 2CA936), et une souche clinique *Candida albicans*. et leurs associations aux antibiotiques auxquelles elles sont résistantes.

Pour atteindre ces objectifs nous avons réalisé les étapes suivantes :

- ✓ Mise en évidence de l'activité antibactérienne des huiles essentielles par la méthode des disques vis-à-vis les différentes souches bactériennes
- ✓ Mise en évidence de l'activité antifongiques des huiles essentielles par la méthode des disques vis-à-vis les différentes souches fongiques / un champignon et une levure.
- ✓ Etude de l'association huiles essentielles/antibiotiques par la méthode des disques.

Trois grandes parties sont illustrées dans ce présent mémoire, la première aborde une synthèse bibliographique permettant de situer le travail dans son contexte scientifique. Ensuite, la deuxième partie concerne le matériel et les méthodes utilisées pour chaque étape de travail depuis la réactivation des souches microbiennes, la préparation des dilutions des HEs, l'étude de l'effet des huiles essentielles sur la croissance des souches testées et l'étude de l'association « huile essentielle / antibiotique », Enfin, les résultats obtenus ont été analysés, discutés et comparés avec des résultats investigateurs sur le thème en question. Ce mémoire est clôturé par une conclusion qui comporte une série de réflexions scientifiques et de perspectives qui restent à réaliser dans un avenir proche.

Partie 1

Synthèse Bibliographique

I. Généralités sur le romarin (*Rosmarinus officinalis L*)

Le *Rosmarinus officinalis L* (Romarin) est un arbrisseau qui doit son nom au latin ros, rosée et marinus, marin. En effet, D'après la légende, le Romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions Où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour (Leplat, 2017).

Rosmarinus du latin Rose de la mer (Fig 1). Cette étymologie est controversée : en fait "ros" viendrait d'un nom du latin dérivant de rhus "rhous =sumac" qui rappelle l'aspect d'arbrisseau de la plante (Hoefler, 1994).



Figure 1. La plante de Romarin (Abdessultane et Sidamar, 2017 ; Bachene et Benattia, 2020)

I.1. Historique

Le romarin, chargé de symboles chez les Anciens qui en faisait des couronnes, a servi à l'élaboration d'un remède longtemps réputé, « l'Eau de la reine de Hongrie » qui en fait est un alcoolat : à l'aide de ce remède, la souveraine, âgée de 72 ans, guérit des rhumatismes et de la podagre (Abdessultane et Sidamar, 2017).

Le Romarin, très prisé par les anciens pour les cérémonies religieuses, n'était que peu utilisé pour ses propriétés médicinales (Leplat, 2017). Alors que pour Dioscoride et Pline, au début de notre ère, il était très estimé comme plante médicinale et condimentaire (Tessier, 2003).

I.2. Habitat

Le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs. En Algérie on trouve le romarin dans toute les communes, Garrigues, forêts claires, et avec une floraison annuelle (Beloued, 2001).

L'aire géographique du Romarin est spécifiquement méditerranéenne. Ainsi, il est répandu dans les pays européens à savoir la France, l'Espagne, et le Portugal. De l'autre côté du

Gibraltar, on le retrouve au Maroc en Algérie, en Tunisie et en Libye. On le trouve sur les sols calcaires (Halal, 2010).

I.3. Classification botanique de la plante

Tableau 1. Classification botanique de *Rosmarinus officinalis L*(Quezel et Santa, 1963)

| | |
|--------------------|---------------------------------|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Spermaphyte |
| Sous embranchement | Angiosperme |
| Classe | Magnoliopsida |
| Ordre | Tubiflorales |
| Famille | Lamiaceae |
| Genre | <i>Rosmarinus</i> |
| Espèce | <i>Rosmarinus officinalis L</i> |

I.4. Description botanique

Le romarin est un arbrisseau aromatique qui se reconnaît de loin par son odeur.Cette plante peut atteindre 2m de hauteur, toujours vert, très rameux (Faïza et Baghloul, 2018).

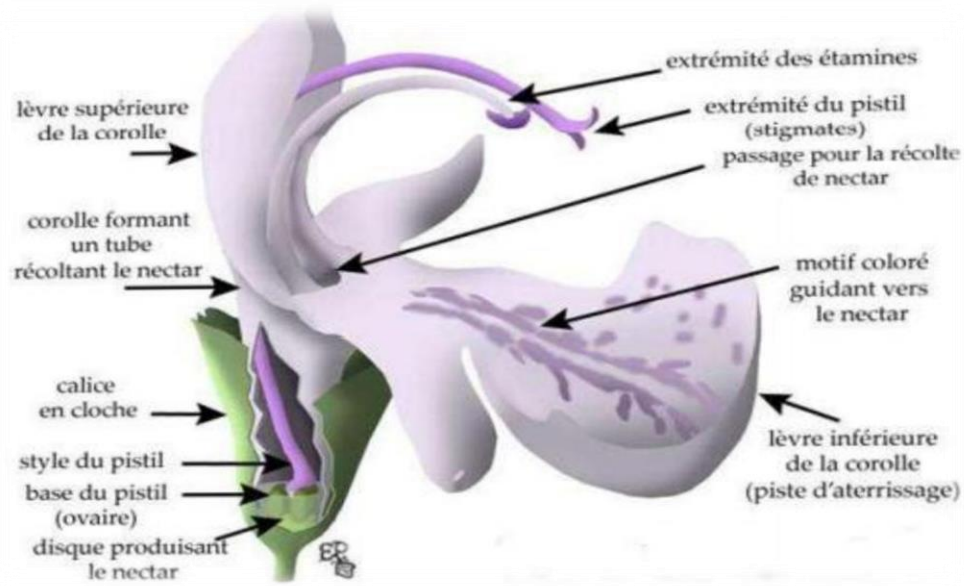
✓ **Les feuilles** sessiles et opposées, sont persistantes et vivaces. Elles sont enroulées sur les bords) (Fig 2), vertes à la face supérieure, velues et blanchâtres à la face inférieure (Ouibrahim, 2016).

✓ **La tige**, à l'écorce grisâtre, écailleuse et fissurée, se divisant en rameaux opposés tortueux, nœuds distancés de 0,5 à 2mm (Ouibrahim, 2016).



Figure 2. Racines de *Rosmarinus officinalis L*(Laouici et Benabdelkader, 2020)

✓ **Les fleurs** sont réunies au sommet des rameaux) (Fig 3), de couleurs bleues pâles à blanchâtre, Pratiquement sessiles, disposées en petites grappes axillaires et terminales (Halal,



2010).

Figure 3. L'organisation de la fleur de *Rosmarinus officinalis L*(site 1)

✓ **Le fruit** est un tétrakène sèche et lisse de forme ovale située au fond du calice) (Fig 4)., dont chaque partie renferme un seul embryon sans albumen (Laouici et Benabdelkader,



2020).

Figure 4. Fruit de *Rosmarinus officinalis L*(site 2)

I.5. La croissance et le développement de la plante

Le romarin est une plante diploïde et allogame qui se multiplie aussi bien par propagation végétative que par voie sexuée. La floraison du romarin dépend essentiellement de la

pluviométrie automnale. L'espèce produit en conditions favorables de nombreuses inflorescences en grappes axillaires, à nombre de fleurs variables (3 à 8).

La fécondation conduit à la formation de quatre nucules qui renferment chacun un embryon bien structuré après la fécondation (Zaouali et *al.*, 2003).

I.6. La composition chimique

Le romarin est riche en principes actifs. Il contient des flavonoïdes, des acides phénols, notamment l'acide rosmarinique (2 à 3 %). Les feuilles de romarin contiennent de la résine, de tanin, une substance amère et environ 1.50 % d'une essence spéciale à odeur aromatique, saveur chaude et camphrée, de cinéole et de camphre ordinaire (Bérenge et *al.*, 2000).

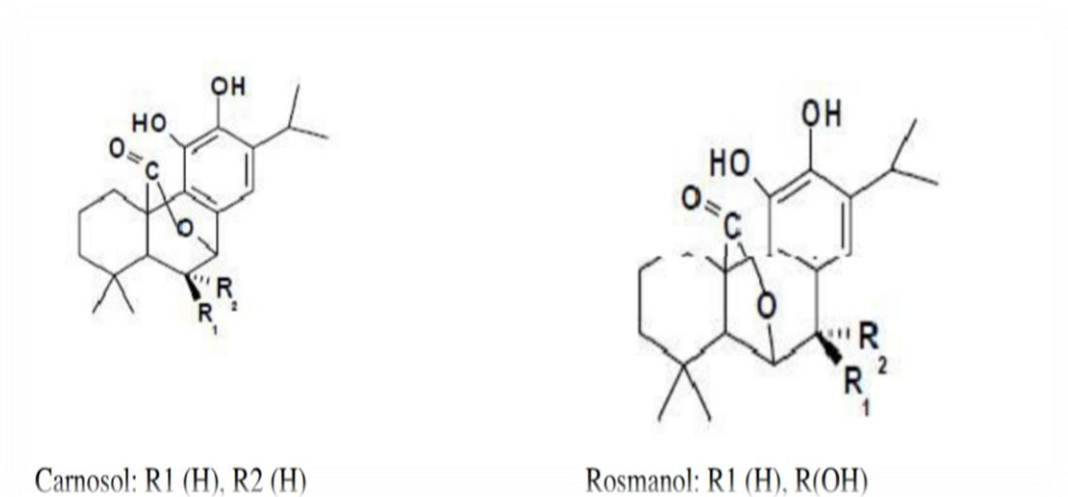
Les principaux constituants de l'huile essentielle de Romarin sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Composition chimique de *Rosmarinus officinalis L*

| | |
|---|--|
| Huile essentielle | Représente 1 à 3% de la plante, les principaux constituants peuvent être le 1,8-cinéole, camphre, α -pinène, autres monoterpènes (bornéol, limonène, camphène, α -terpinéol) (Outaleb et Tydia, 2016). |
| Diterpènes phénoliques tricycliques | Constitués principalement d'acide carnosolique (Fig 5) (environ 0,35%) qui se dégrade facilement en carnosol, et est accompagné d'isorosmanol, derosmariquinone, de rosmaridiphénol (Outaleb et Tydia, 2016) |
| Acides phénols | Environ 3% de l'acide caféique avec l'acide rosmarinique notamment (Barbouche et <i>al.</i> , 2001). |
| Flavones méthylés | Genkwanine, lutéoline, diosmétine, et leurs hétérosides : phégopoline = genkwanine-4-O-glucoside (Barbouche et <i>al.</i> , 2001). |
| Triterpènes et stéroïdes | Environ 10% d'acide oléanolique et 5% de dérivés de l'acide ursolique accompagnés de α - et β -amyrines (Barbouche et <i>al.</i> , 2001). |
| Dérivés de l'acide cinnamique (tannins) | représentent environ 3,5% et sont constitués principalement d'acide rosmarinique (1,1 à 2,5%) (Barbouche et <i>al.</i> , 2001). |
| Autre constituants | Contient polysaccharides acide (environ 6%), traces de salicylates |

traces de salicylates (Barbouche et *al.*, 2001).

Concernant les éléments minéraux, la spectrométrie d'émission atomique a pu identifier 18 éléments Al : 146.48 mg/kg ; Ca : 7791.80 mg/kg ; Fe : 330.16 mg/kg ; K : 14916.23 mg/kg ; Mg : 1634.55 mg/kg ; Na : 2711.87 mg/kg ; P : 1474.60 mg/kg ; Cr : 97.36 mg/kg ; Sr : 74 .65



mg/kg (Arslan et *al.*, 2007).

Figure 5. Structure de quelques di terpènes phénoliques du Romarin (Zoubeidi, 2014)

I.7 Utilisation de la plante

Le romarin est employé en médecine traditionnelle dans de nombreux pays.

I.7.1 Usage culinaire

Le romarin, grâce à ses propriétés apéritives et digestives, est aussi utilisé en tant qu'épice. En effet, son parfum résineux rappelant le pin, sa saveur un peu amère mais très aromatique sont très appréciés. S'il est employé en grande quantité, son goût puissant peut dissimuler celui des autres ingrédients.

Le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments (Ponce et *al.*, 2008).

I.7.2. Agriculture

Les hautes plaines steppiques connaissent aujourd'hui une forte dégradation qui se traduit par la réduction du potentiel biologique et la rupture des équilibres écologiques et socio-

économiques. Afin de préserver et d'améliorer les sols de ces régions, la valorisation des espèces spontanées (fourragères et médicinales). Connues pour leurs tolérances à la sécheresse et à la salinité telle que le romarin, s'avère indispensable (Mouas, 2018).

I.7.3. Industrie alimentaire

Le romarin est très utilisé en tant que condiment dans le bassin méditerranéen et en Angleterre pour aromatiser les viandes (poulet, canard, lapin, porc, veau, agneau), les poissons, les ragouts, les soupes et les légumes (pommes de terre, aubergines,). Il existe du miel spécialement produit à partir du nectar des fleurs de romarin. Ce miel très parfumé et appelé "Miel de Narbonne" ou miel de romarin (Hoefler, 1994).

I.7.4. Industrie de parfumerie

La faculté des extraits de romarin a protégé la peau des lésions cutanées induites par les radicaux libres. Ils ont montré la validité réelle de la biotechnologie des antioxydants naturels dans la gestion de l'antivieillessement de la peau (Bousbia, 2011). L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme undesingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants (Arnold et *al.*, 1997).

I.7.5. Utilisations cosmétiques

L'essence de romarin entre dans la composition de l'eau de cologne, du baume opodeldoch, du baume tranquille, du baume nerval. En homéopathie, on emploie la teinture préparée avec les feuilles sèches contre les maux de tête, l'affaiblissement intellectuel, la chute des cheveux, la métrorrhagie (Fournier, 1999).

II. Généralités sur l'*Artemisia herba-alba* Asso

Artemisia herba alba ou l'armoise blanche a été décrite par l'historien Grec Xénophon en 1779 dans les steppes du Moyen Orient (Ould Mohamed et Chadli, 2021), c'est une plante médicinale et aromatique (Fig 6), poussant dans les zones semi-arides et arides du bassin méditerranéen. Cette herbe est abondante dans de vastes zones, les steppes et le désert du Sahara d'Algérie (Ouguirti et *al.*, 2021).



Figure 6. Touffe d'*Artemisia herba-alba* (site 3)

II.1. Habitat et répartition géographique

L'*Artemisia Herba-Alba* est largement répandue depuis les îles Canaries et le sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) (Messai, 2011).

Cette plante pousse dans l'hémisphère nord. On en trouve surtout en Orient et en Afrique du Nord. Elle existe également dans l'hémisphère sud, a" Chili. (Fenardji et *al.*, 1974).

- Local : les Hauts plateaux et le Sahara septentrional.
- Regional: Afrique du Nord.
- Mondial : Espagne, Afrique du Nord et Asie occidentale (Bouzidi, 2016).

En Algérie, l'*Artemisia herba alba* connue sous le nom de « Chih = الشيح » ou encore appelé semen-contra de barbarie, couvre près de six millions d'hectares dans les steppes, elle se présente sous forme de buissons blancs, laineux et espacés (Boudraa et *al.*, 2020).

II.2. Identité vernaculaire

Amazight : Ifsi

Arabe : الشيج

Français : Armoise blanche (Yousfi, 2017).

En Anglais : Wormwood.

Nom scientifique : *Artemisia herba alba* Asso (Ould Mohamed et Chadli, 2021).

II. 3. Classification botanique de la plante (Quezel et Santa, 1963)

Tableau 3. Classification botanique de *Artemisia herba alba* Asso (Quezel et Santa, 1963)

| | |
|--------------------|------------------------------------|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Spermaphyte |
| Sous embranchement | Angiosperme |
| Classe | Dicotylédones |
| Famille | Asteraceae |
| Sous Famille | Asterioideae |
| Genre | <i>Artemisia</i> |
| Espèce | <i>Artemisia herba alba</i> (Asso) |

II.4. Description botanique de la plante

II.4.1. Partie aérienne

II.4.1.1. Tige : Ou partie ligneuse et ramifiée, de 30 à 50 cm de long, très feuillée avec une souche épaisse (Fig 7). La touffe des tiges est plus importante selon la pluviométrie (Pottier, 1981).

II.4.1.2. Feuille : Elles sont courtes, généralement pubescentes, argentées, pinnati-partites (Fenardji et *al.*, 1974), petites, sessiles, pubescentes et à aspect argenté (Pottier, 1981). Elles diminuent de taille au fur et à mesure que les rameaux s'allongent cette diminution de taille des feuilles entraîne une réduction considérable de la surface transparente, et par conséquent permet à la plante de résister à la sécheresse (Boudraa et *al.*, 2020).

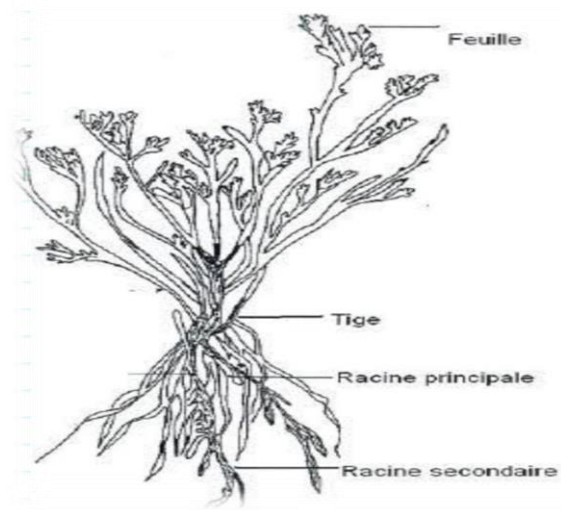
II.4.1.3. Fleurs : Elles sont toutes tubuleuses à corolle peu visible (Gast, 1989), groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune à rougeâtre (Bezza et *al.*, 2010).



Figure 7. Morphologie de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* Asso (Ouyahya, 1995)

II.4.2. Partie souterraine ou racine

Elle se présente sous forme d'une racine principale, ligneuse et épaisse (Fig 8), bien distincte des racines secondaires et qui s'enfonce dans le sol tel un pivot la racine pénètre profondément jusqu'à 40 à 50 centimètres et ne des ramifie qu'à cette profondeur (Boudraa et



al., 2020).

Figure 8. Morphologie générale de plante d'*Artemisia herba alba* (Ould Mohamed et Chadli , 2021)

II.5. Composition chimique de la plante

La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute. Le taux de β -carotène varie entre 1,3 et 7mg/kg selon les saisons (Ould Mohamed et Chadli, 2021). La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6

UF/kg MS) (Fenardji et *al.*, 1974). Cette plante présente un équilibre harmonieux entre le calcium (0.5%) et le phosphore (0.07%). Elle est assez riche en cellulose (26,73%) (Ayad et *al.*, 2014).

La plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé malgré que son aspect extérieur indique l'inverse (17 à 33%) (Bochra et Ghalia, 2021).

II.6. Utilisation de la plante

II.6.1. Utilisation traditionnelle et médicinale

Artemisia herba-alba est l'une des herbes médicinales les plus populaires couramment utilisées pour le traitement de nombreuses maladies telles que le rhume, la toux, les troubles intestinaux, la bronchite, la diarrhée, névralgies, hypertension artérielle et/ou diabète (Jouad et *al.*, 2001).

Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal. De loin le remède le plus fréquemment cité dans le traitement des diabètes sucré (Boudraa et *al.*, 2020).

Les feuilles d'*Artemisia* sont utilisées dans le traitement de la bronchite et des abcès, ainsi que pour les spasmes et les menstruations, et cela entre dans le cadre du traitement de la médecine traditionnelle (Baba Aissa, 1991).

L'huile essentielle de cette espèce était connue pour ses vertus thérapeutiques désinfectantes, anthelminthiques et antispasmodiques. En effet, l'huile essentielle a montré une activité antibactérienne ainsi qu'une activité antispasmodique sur les lapins (Jaouadi et *al.*, 2014).

Le genre *Artemisia* est connu pour contenir de nombreux composés bioactifs ; artémisinine exerce non seulement une activité antipaludique, mais aussi profonde cyto-toxicité contre les cellules tumorales (Yousfi, 2017).

II.6.2. Utilisation alimentaire

En alimentation, l'armoise blanche est considérée comme l'arôme de certaines boissons comme le thé ou le café (Lakehal et *al.*, 2016). Néanmoins, son usage dans l'industrie alimentaire reste très limité à cause de la toxicité (Boudraa et *al.*, 2020).

II. 6.3 Utilisation et intérêts socioéconomique

Les plantes de la famille des Astéracées, auquel appartient l'*Artemisia herba alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles

essentielles. Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques (Rebhi,2019).

III. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils (Toure, 2015), obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (Kfoury, 2015).

L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (Deschepper, 2017).

III.1. Composition chimique

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée (Zaibet, 2018). Il s'agit des composés terpéniques (mono et sesquiterpènes) et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Touhami, 2017).

III.1.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$ (Ouis, 2015).

On distingue ainsi selon le nombre d'entités isoprènes le groupe des monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) (Fig 9), les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), les diterpènes ($C_{20}H_{32}$), les tétraterpènes de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes et les polyterpènes $(C_5H_8)_n$ où n peut-être de 9 à 30 (Bounab, 2020).

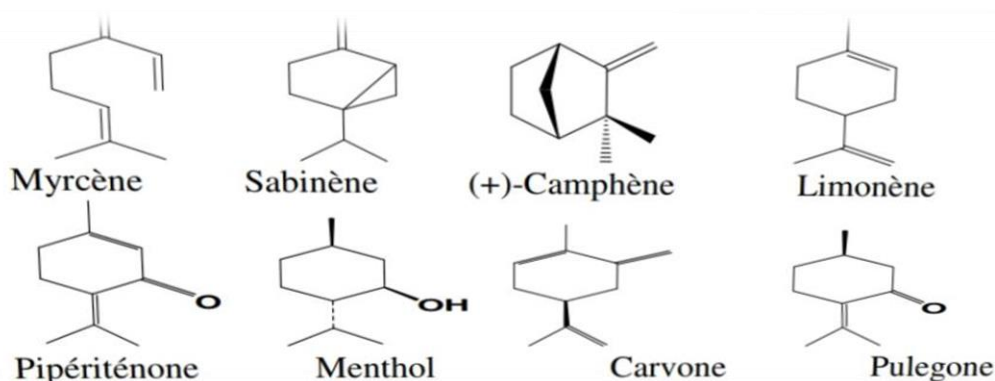


Figure 9. Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E (Fekih, 2014).

III.1.2. Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins de présence dans les huiles essentielles. Mais il est considéré comme un ensemble important (Bencheikh, 2017) car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques traditionnels des huiles essentielles (Fig 10) (Joachim, 1999).

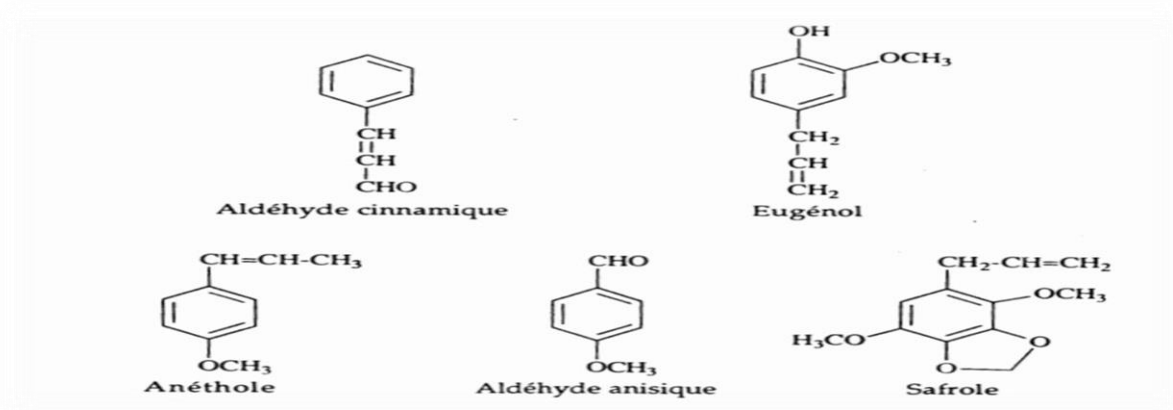


Figure 10. Exemple de composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Joachim, 1999).

III.2. Site de localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles se rencontrent presque exclusivement dans l'embranchement des spermatophytes (Joachim, 1999). Tous les organes peuvent en renfermer des huiles essentielles : fleurs (bergamotier), feuilles (eucalyptus, laurier), racines (vétiver), écorces (cannelier), fruits (anis, agrumes, badiane), graines (muscade), rhizomes (gingembre) et bois (bois de rose) (Zaibet, 2018).

III.3. Fonction des huiles essentielles dans la plante

Les plantes les utilisent pour se protéger contre les virus et tous pensent qu'il s'agit d'hormones végétales et aussi sont des messagers entre sorte de parasites et de microbes (Bencheikh, 2017).

Les composés terpéniques possèdent un caractère toxique et répulsif vis-à-vis à de nombreux insectes ravageurs de plantes, ainsi ils semblent jouer un rôle de défense important dans le règne végétal (Menaceur, 2015).

Barrière contre l'évaporation.

Protecteur par action antiseptique vis à vis de certains micro-organismes comme les champignons (Joachim, 1999).

III.4. Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

III.4.1. Propriétés physiques

Les essences et les huiles essentielles ont des propriétés physiques communes, qui peuvent cependant varier en fonction de leur composition chimique :

- ✓ À température ambiante, les huiles essentielles sont liquides (Touhami, 2017).
- ✓ Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques (Zaibet, 2018).
- ✓ Les huiles essentielles sont souvent colorées en jaunes pâle ou incolore à température ambiante à l'exception des huiles essentielles de camomille, romarin qui est de couleur bleue claire (Bernard et al., 1988).
- ✓ Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,850 à 0,950 sauf pour les huiles essentielles de cannelle, girofle et sassafras (Touhami, 2017).
- ✓ Volatiles, leur volatilité augmente avec la chaleur avec un indice de réfraction élevé.
- ✓ Optiquement actives (elles dévient la lumière polarisée pour la plupart) (Justine, 2019).

III.4.2. Propriétés chimiques

Les huiles essentielles s'oxydent à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène en même temps que leur odeur se modifie. Elles absorbent le chlore, le brome, l'iode avec un dégagement de chaleur, et peuvent se combiner à l'eau pour former des hydrates (Touhami, 2017).

Une propriété peut être considérée comme commune à toutes les huiles essentielles. Elles ont pratiquement toutes le pouvoir de traverser la peau et de se retrouver plus ou moins rapidement dans le sang (Randrianarivelo, 2010).

III.5. La conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T (Huile Essentielle Chémotypée) par exemple. Seules les essences de Citrus se gardent un peu moins longtemps (trois ans) (Mayer, 2012).

Il est possible de réduire l'instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles en utilisant des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun,

entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockés à basses température, ou conservés sous atmosphère d'azote (Bruneton, 1993).

III.6. Mode d'obtention des huiles essentielles

Les HEs et leurs composants sont extraits généralement d'un matériel naturel ou produites par synthèse chimique après caractérisation et élucidation de leur structure (Kfoury, 2015).

Plusieurs méthodes existent pour extraire les huiles essentielles. Elles sont basées principalement sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. (Samate, 2001).

En effet, l'extraction à partir des plantes aromatiques aboutit à une HE complexe et le rendement de cette extraction est sujet à plusieurs contraintes comme la faible teneur en HE dans le matériel végétal, les variations climatiques, la nature du sol, la nutrition et les maladies de la plante (Kfoury, 2015).

La neuvième édition de la Pharmacopée européenne indique que les huiles essentielles sont obtenues par :

- Hydrodistillation
- Distillation sèche
- Procédé mécanique sans chauffage (Deschepper, 2017).
-

III.6.1. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce faite-là plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition (Guerrouf, 2017).

La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique (El Haib, 2011). Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant. Les huiles essentielles peuvent être séparées par décantation après refroidissement (Fig 11) (Touhami, 2017).

Ces phénomènes ont été rendus possibles à l'échelle du laboratoire grâce à l'utilisation d'un appareillage de type Clévenger (Sutour, 2010).

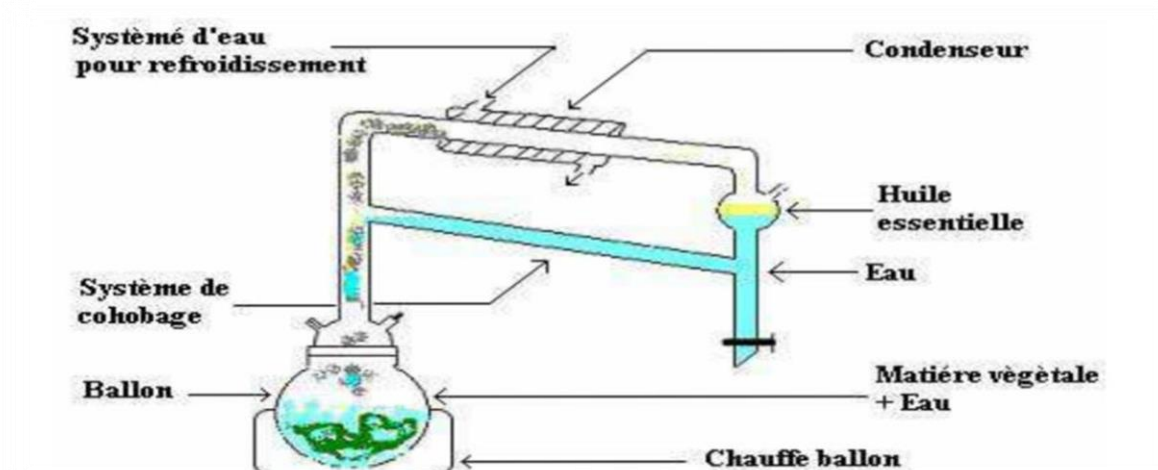


Figure 11. Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (Zaibet , 2018).

III.6.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Les méthodes d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe (Fig 12) (Samate, 2001).

Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées (Fig 12) puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE) (Boukhatem *et al.*, 2019) .

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (Guerrouf, 2017).

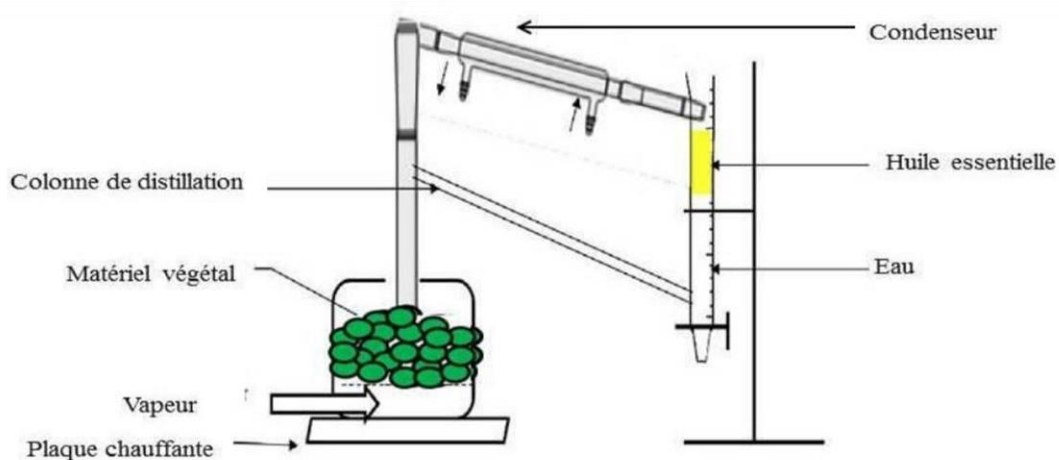


Figure 12. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Mnayer, 2014)

III.6.3. Distillation sèche

La distillation sèche ou distillation destructive, consiste à chauffer de manière modérée de la matière végétale sans ajout d'eau ou de solvant puis condenser les substances volatiles. Grâce aux faibles températures atteintes lors de l'opération (Bali, 2015).

L'avantage de cette méthode est la température à laquelle se déroule l'extraction : inférieure à 100°C, ce qui évite la dénaturation de certaines molécules thermosensibles (Lucchesi, 2005).

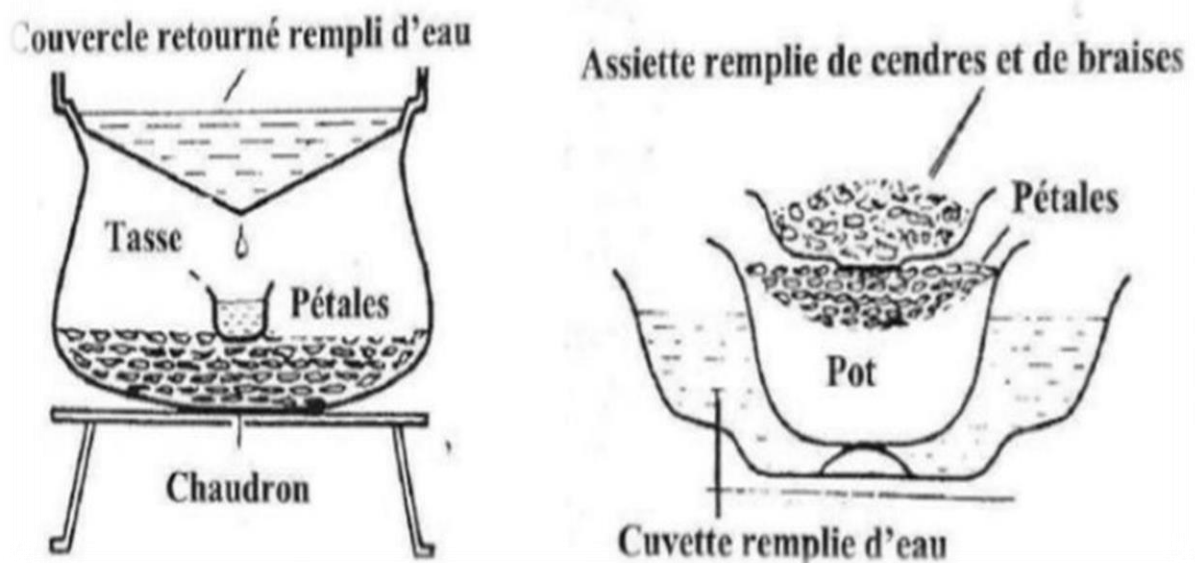


Figure 13. Schéma d'une installation de distillation sèche (Ben kadi et al., 2022).

On obtient par ce procédé une huile essentielle de grande qualité, assez fidèle à l'essence présente dans la plante, mais avec un rendement très faible. C'est donc une méthode qui convient aux matières premières particulièrement fragiles (Fig 13) (Tuley, 1996).

III.6.4. Expression à froid

Cette méthode n'est utilisée que pour les épicarpes des Citrus (*Citrus limonum*, *Citrus sinensis*...). Toutefois, ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes (Chekoual, 2019).

Le principe de ce procédé mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en huiles essentielles. L'huile essentielle ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau (Menaceur, 2015).

III.6.5. Extraction assistée par micro-onde

Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) (El Haib, 2011).

L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait (Boukhatem et al., 2019).

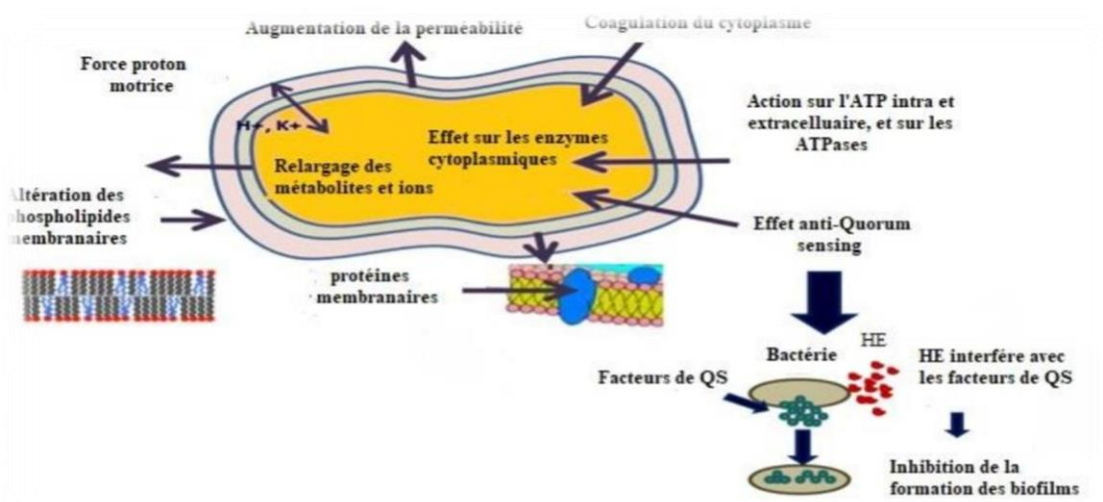
III. 7. La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Commetous les produits naturels : "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme" (Piochon, 2008).

Ils peuvent avoir des effets secondaires très graves, dus à leur pouvoir, en citant par exemple l'effet irritant qui provient des huiles essentielles riches en thymol ou en carvacrole, l'effet allergène provenant des huiles essentielles riches en cinnamaldéhyde (Touhami, 2017).

III.8. Mécanisme de l'action antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de Plantes

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe (Toure, 2015) qui leur permet de pénétrer les cellules microbiennes et d'y provoquer des altérations fonctionnelles et structurales, ce qui augmente la perméabilité membranaire des germes et la perturbation de



leurs systèmes de transport et de production d'énergie (Fig14) (Ouguirti, 2022).

Figure 14. Mécanisme d'action et les cibles des HEs sur les cellules microbiennes (Nazzaro et al., 2013)

On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes :

- Effet bactéricide (bactéricidie) : exerçant une activité mortelle
- Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance (Bencheikh, 2018).

III.9. Domaines d'application de l'huile essentielle du Romarin (*Rosmarinus officinalis L*) et (*Artémisia herba alba* Asso)

✓ La feuille de Romarin est utilisée, par voie externe, sous forme d'huile, de pommade, de liniment, comme additif de bain, en tant que traitement complémentaire des pathologies rhumatismales (Leplat, 2017).

✓ Les flavonoïdes et les diterpènes du Romarin lui confèrent des propriétés antioxydantes ce qui lui permet de réduire l'action des radicaux libres (Debuigne et al., 2009).

✓ Le romarin est composé de puissantes huiles essentielles qui lui confèrent des propriétés: digestive, stimulante, détoxiquante, diurétique, expectorante, anti-inflammatoire, antispasmodique, antinévralgique, tonique (Aissaoui et Belaid, 2020).

✓ L'huile essentielle d'*A. herba-alba* est historiquement connue en médecine traditionnelle à base de plantes. De nombreux scientifiques ont montré divers effets biologiques et pharmacologiques de cette huile, en particulier antimicrobienne (bactéries et champignons) (Hudaib et Aburjai, 2006).

✓ L'huile essentielle d'*A. herba-alba* était connue pour ses vertus thérapeutiques désinfectantes, anthelminthiques et antispasmodiques (Touil, 2018).

Partie 11

Matériel et Méthodes

Notre étude appliquée fut menée au niveau du complexe des laboratoires pédagogiques de la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma(Photo1) pendant une période d'un mois, sous la direction de responsable du hall de technologie de Mme : Chorfi.R



Photographie 1. Complexe des laboratoires pédagogiques de la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma (Khenchela).

1. Objectif du travail

La récente approche sur l'utilisation des plantes médicinales en synergie avec les antibiotiques, constitue une nouvelle stratégie concernant le problème de résistance des bactéries aux antibiotiques.

L'association entre des huiles essentielles et des molécules synthétiques peut sembler être une bonne stratégie pour dépasser ce problème de la résistance bactérienne et ainsi améliorer l'efficacité de ces deux agents.

Dans cette étude l'activité antibactérienne des huiles essentielles des espèces (*Artemisia herba alba* et de *Rosmarinus officinalis*) a été évaluée seule et en association avec des antibiotiques standards sur des bactéries résistantes aux antibiotiques impliquées dans plusieurs infections.

2. Matériel

2.1. Matériel végétal

Dans cette partie de notre travail, les extraits bruts en huiles essentielles de l'espèce *Artemisia herba alba* et de *Rosmarinus officinalis* ont été fournis gracieusement et mis à notre disposition (Photo 2). Par le laboratoire d'Aromabioil d'extraction des huiles essentielles et végétales (entreprise) dans la Wilaya de Bordj Bou Arreridj.



Photographie 2. Les huiles essentielles de l'espèce *Artemisia herba alba* et de *Rosmarinus officinalis*

Les informations concernant la récolte ainsi que l'extraction de chaque huile essentielle nous ont été communiquées comme suit :

Les échantillons de la partie aérienne (tiges et feuilles) d'*Artemisia herba alba* et de *Rosmarinus officinalis* ont été récoltés durant le mois d'avril 2023, dans la Wilaya de Bordj Bou Arreridj. Les plantes récoltées ont été séchées à l'ombre pendant 10 jours.

2.1.1. Extraction des huiles essentielles

2.1.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HEs (Fig 15) (Pharmacopée Européenne, 2007). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière

végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters (Raaman, 2006). Les fractions dites « de tête », fragrances très volatiles dues à des molécules légères, apparaissent en premier. Le plus souvent, une demi-heure permet de recueillir 95 % des molécules volatiles, ce qui suffit aux besoins de l'industrie et de la parfumerie, comme pour la lavande. L'emploi en aromathérapie impose de prolonger l'opération aussi longtemps qu'il est nécessaire afin de récupérer la totalité des composants aromatiques volatils (Kaloustian *et al.*, 2012 ; Masango, 2005 ; Gavahian et Chu, 2018 ; Boukhatem *et al.*, 2019).

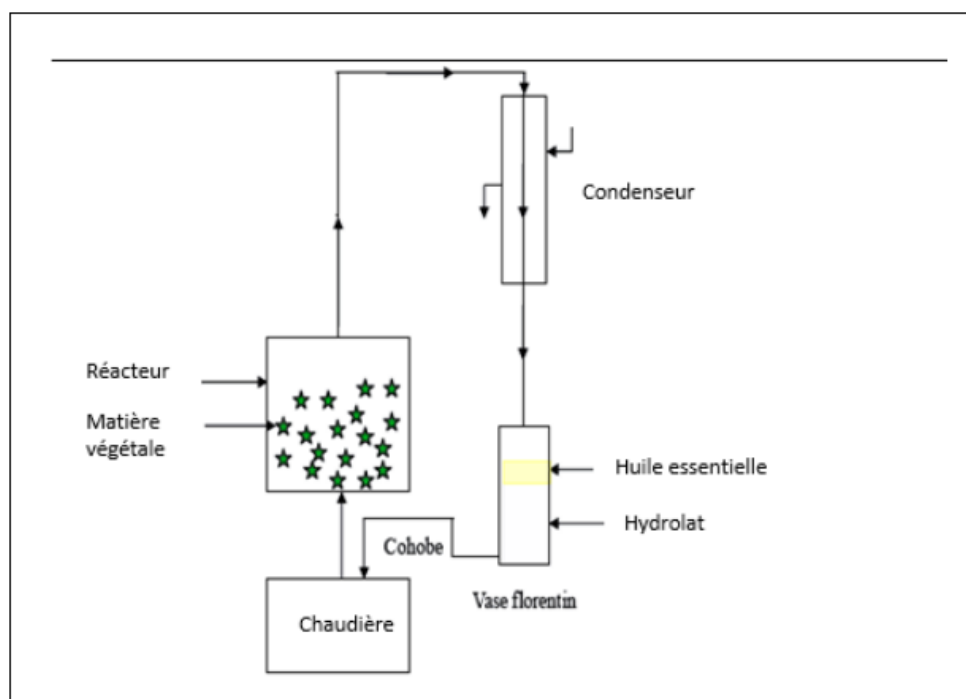


Figure 15.Principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur (EVE) (Farhat, 2010)

La conservation de ces huiles s'est faite à 4°C dans de petits flacons en verre opaque ou entourés du papier aluminium et fermé hermétiquement, pour une utilisation ultérieure.

2.2. Milieux de culture

- Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits.
- Gélose nutritive et bouillon nutritif pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- Gélose dextrose à la pomme de terre (PDA) pour l'étude de la sensibilité du champignon aux différents extraits.

2.3. Matériel Biologique

2.3. 1. Les souches microbiennes testées

Les souches utilisées dans cette étude font partie de deux groupes de microorganismes : Bactéries à (Gram + et Gram -) et des champignons (Tab 4).

Tableau 4. Sources des souches microbiennes étudiées

| Type de microorganisme | Les souches | La source |
|--------------------------|--|---|
| Les bactéries pathogènes | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | Centre National de Recherche en Biotechnologie (Constantine, Algérie) |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 | Centre National de Recherche en Biotechnologie (Constantine, Algérie) |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | Centre National de Recherche en Biotechnologie (Constantine, Algérie) |
| | <i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778 | Centre National de Recherche en Biotechnologie (Constantine, Algérie) |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352 | Centre National de Recherche en Biotechnologie (Constantine, Algérie) |
| Les champignons | <i>Aspergillus niger</i> 2CA936 | Centre National de Recherche en Biotechnologie (Constantine, Algérie) |
| Les levures | <i>Candida albicans</i> | Isolat clinique, issus de laboratoire privé, Khenchela |

2.4. Antibiotiques

Dans chaque boîte d'antibiogramme, on a utilisé Six (6) disques d'antibiotiques. Le choix des antibiotiques a été fait en fonction de la disponibilité au laboratoire (Tab 5).

Tableau 5. Disques d'antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme

| Sigle | Antibiotique | Famille | Quantité (µg) |
|------------|-----------------|-----------------|---------------|
| <i>F</i> | Nitrofurantoïne | Nitrofuranes | 300 |
| <i>OFX</i> | Ofloxacine | Fluoroquinolone | 5 |
| <i>PT</i> | Pristinamycine | Streptogramines | 15 |
| <i>TE</i> | Tétracycline | Tétracycline | 30 |

| | | | |
|-----------|------------|-------------|-----|
| <i>OX</i> | Oxacilline | Pénicilline | 5 |
| <i>SP</i> | Sulfamide | Sulfamides | 300 |

3. Méthodes

3.1. Réactivation des souches microbiennes

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir de cultures jeunes de 18h à 24 heures en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches a été effectuée par ensemencement sur le milieu Gélose nutritive (GN) (Annexe 1) pour les souches bactériennes. Le milieu de culture ensemencé est incubé à l'étuve de type (MEMMNET) à 37° C pendant 18-24 heures. Et sur le milieu PDA (Annexe 1) pour la levure et le champignon, Le milieu de culture ensemencé est incubé à l'étuve à 25° C pendant 18-24 heures pour la levure, et 7 jours pour le champignon.

3.2. Préparation des dilutions des HEs

Les huiles essentielles des plantes ont été dilués à différentes concentrations (1/2, 1/4, 1/8, 1/16) dans le diméthyl sulfoxyde (DMSO).

3.3. Préparation de la suspension microbienne

- ✓ A l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies des souches (bactérienne et levurienne) cibles, bien isolées ont été prélevées à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 h puis sont dissociées dans 5 ml d'eau physiologique (Annexe 1) suivi d'une agitation à l'aide d'un Vortex.
- ✓ La standardisation de la suspension à 10^6 UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm.
- ✓ Selon Mac Farland, on admet une DO (625 nm) comprise entre 0,08 et 0,1 qui correspondent à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml.
- ✓ Cet inoculum sert à ensemencer par écouvillonnage des boites de Pétri stériles préalablement coulées par la gélose Mueller Hinton (MH) (Annexe 1). Sur une épaisseur de 4 mm. et séchées 30 min à température ambiante avant emploi.

3.4. Antibiogrammes des souches cibles

La sensibilité de ces souches aux ATBs a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose MH suivant les recommandations de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010).

- Des disques d'ATB de différentes familles sont disposés sur la gélose MH préalablement ensemencée avec la souche teste par la méthode d'écouvillonnage.

- Après incubation à 37°C pendant 24h, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en mm.

3.5. Aromatogramme

L'aromatogramme est une méthode inspirée de l'antibiogramme qui permet de déterminer l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne des huiles essentielles par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque de papier Wattman imprégné d'huile essentielle ou de produit à base d'huiles essentielles.

3.5.1. Méthode des disques

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antimicrobien sur milieu gélosé à l'agar (MH) réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier Wattman (papier Wattman N°1 de 6 mm de diamètre stérile) selon (Rasooli et Mirmostafa, 2003 ; Toroglu, 2011).

3.5.2. Protocole expérimental

La gélose utilisée est la gélose Muller Hinton, fondue et stérilisé à 120°C, dans un autoclave et versée dans des boîtes de pétri près du bec bunsen. Son ensemencement a été effectué dans les 15 minutes qui ont suivi la préparation de l'inoculum selon les étapes suivantes :

- ✓ Couler 15ml de la gélose MH en boîtes de pétri, laisser sécher 15min et solidifier avant utilisation.
- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum préparé (10^6 UFC/ml).
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la gélose de haut en bas, en stries serrées en répétant l'opération 2 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- ✓ Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon par la périphérie de la gélose

3.5.3. Dépôt des disques

Après avoir ensemencé les boîtes de Pétri contenant de la gélose MH (4 mm d'épaisseur) par les suspensions bactériennes précédemment préparées de chaque souche utilisée, on dépose à l'aide d'une pince stérile, les disques de papier Wattman stérilisés, imbibés des différentes concentrations d'huiles essentielles. Appuyant légèrement, pour assurer un contact uniforme avec le milieu. En les espaçant suffisamment pour éviter les chevauchements.

Les boîtes de pétri sont ensuite laissées sur la paillasse pendant 30 mn pour la saturation des disques en produits et leur diffusion dans la gélose. Elles sont par la suite, mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 24h pour la levure. (Rebai et Saidi sief, 2017).L'expérience est répétée trois fois pour chaque souche bactérienne.

3.5.4. Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (en mm) avec précision à l'aide d'une règle décimale à l'extérieur de la boîte fermée (Rebai et Saidi sief, 2017).

Les diamètres sont mesurés en mm et le résultat étant la moyenne des trois essais.

La sensibilité des souches testées envers l'huile essentielle est classée selon les diamètres des halos d'inhibition (Ponce et *al.*, 2003).

- diamètre < 8mm : non sensible (-) ou résistante
- diamètre compris entre 9 à 14 mm : sensible (+)
- diamètre compris entre 15 à 19 mm : très sensible (++)
- diamètre > 20 mm : extrêmement sensible (+++).

3.6. Etude de l'association « huile essentielle / antibiotique » par la méthode des disques

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'association HES/ATBs est celle de diffusion sur milieu solide préconisée par(Halawani, 2009 ; Mandal et *al.*, 2010 ;Toroglu, 2011).

Les disques d'antibiotiques de 6 mm de diamètre sont déposés sur la gélose de chaque boîte MH préalablement ensemencée .A l'aide d'une micropipette, 10 µl d'HEs sont déposés sur chaque disque d'ATB, Les boîtes sont laissées diffuser à 4°C pendant 2 h puis incubées à 37°C pendant 24 h. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition est mesuré en mm. Le résultat étant la moyenne de trois essais (Photo 3).

Les données ont été analysées comme suit :

Indifférence :les deux zones d'inhibition de l'HEs seule et de l'association HES/ATBs restent inchangées.

Antagonisme :la zone d'inhibition de l'association HES/ATBs est moins importante que celle de l'HE toute seule.

Synergie : la zone d'inhibition de l'association HES/ATBs est plus importante que celle de l'HE toute seule.



Photographie 3. Evaluation de la synergie (Huile essentielle / Antibiotique)

3.7. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles

3.7.1. Technique de dilution sur milieu solide

Cette technique est appliquée sur des boîtes de pétri (9 mm) pour déterminer le taux de croissance ou le taux d'inhibition d'une souche microbienne. 1000 ml du milieu PDA sont préparés, stérilisés, puis conservés. Avant chaque utilisation, le milieu PDA solide est placé dans l'eau bouillante puis introduit au bain-marie pour ramener sa température à 45°C. Pour la préparation des différentes concentrations en huile essentielle à tester, des flacons contenant 60 ml de PDA sont additionnés d'un volume d'huile essentielle (0.6, 0.3, 0.15, 0.03 et 0.006 ml) et mélangés à 1.8 ml de tween 80 à 3% pour obtenir des dilutions de 1, 0.5, 0.25, 0.05, 0.01%. Chaque flacon est homogénéisé instantanément par agitation puis son contenu est versé dans des boîtes de pétri. Le mélange ainsi versé est laissé au repos jusqu'à refroidissement et solidification.

Des disques de mycélium *Aspergillus niger* 2CA936 de 6mm de diamètre sont déposés au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA préparé au préalable avec les différentes dilutions en huile essentielle. Les boîtes de pétri (témoins et essais) sont incubées à 25°, pendant 7 jours.

Partie III

Résultats et Discussion

I. Etude de l'activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle du romarin et de l'armoise blanche a été évaluée selon la technique de diffusion sur milieu solide, par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques à l'égard de 5 germes bactérien soit : *E. coli* (Gram -), *S.aureus*(Gram+),*B.cereus* (Gram+),*K.pneumoniae* (Gram -),et *P. aeruginosa* (Gram -),et la levure *candida albicans* après 24 heures d'incubation à une température de 37 °C pour les bactéries et 25°C pour la levure.

La sensibilité des souches à l'action des huiles essentielles est déterminée comme suit :

- ✓ Diamètre < 8mm : non sensible (-) ou résistante
- ✓ Diamètre compris entre 9 à 14 mm : sensible (+)
- ✓ Diamètre compris entre 15 à 19 mm : très sensible (++)
- ✓ Diamètre > 20 mm : extrêmement sensible (+++).

I.1. Effet de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur la croissance des souches testées

Les résultats de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur les souches microbiennes sous l'action de différentes concentrations de l'huile, sont présentés dans le tableau 6

Tableau 6.Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

| Concentration | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|-------------------------------|-----|-----|-----|------|
| Souche microbienne | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | 26 | 22 | 12 | 11 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 16 | 15 | 12 | 10 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 18 | 18 | 10 | 10 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 14 | 14 | 11 | 8 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 16 | 14 | 14 | 12 |
| <i>candida albicans</i> | 30 | 23 | 22 | 19 |

L'étude de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a permis de révéler une importante activité inhibitrice quant à la croissance de toutes les souches testées. *S. aureus*, d'*E. coli* et de *P. aeruginosa*. *K. pneumoniae*,*B. cereus* et la levure *Candida albicans* , avec des degrés de sensibilité différents, La plus grande activité inhibitrice est

observée avec les fortes concentrations de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* (1/2 et 1/4) avec des zones d'inhibition allant de 30 mm à 23mm sur la levure *Candida albicans* , 26 mm à 22 mm sur *E. coli* , 16 mm sur *B. cereus*, 18 mm sur *S. aureus*, 14 mm sur *P. aeruginosa* et de 16 mm sur *K. pneumoniae*. Tandis que les diamètres de zones d'inhibition avec les faibles concentrations de l'huile (1/8 et 1/16) montrent une faible sensibilité de toutes les souches testées. La différence dans la sensibilité des espèces microbiennes suggère la susceptibilité des différentes souches aux composés bioactifs des huiles essentielles. (Fig 16).

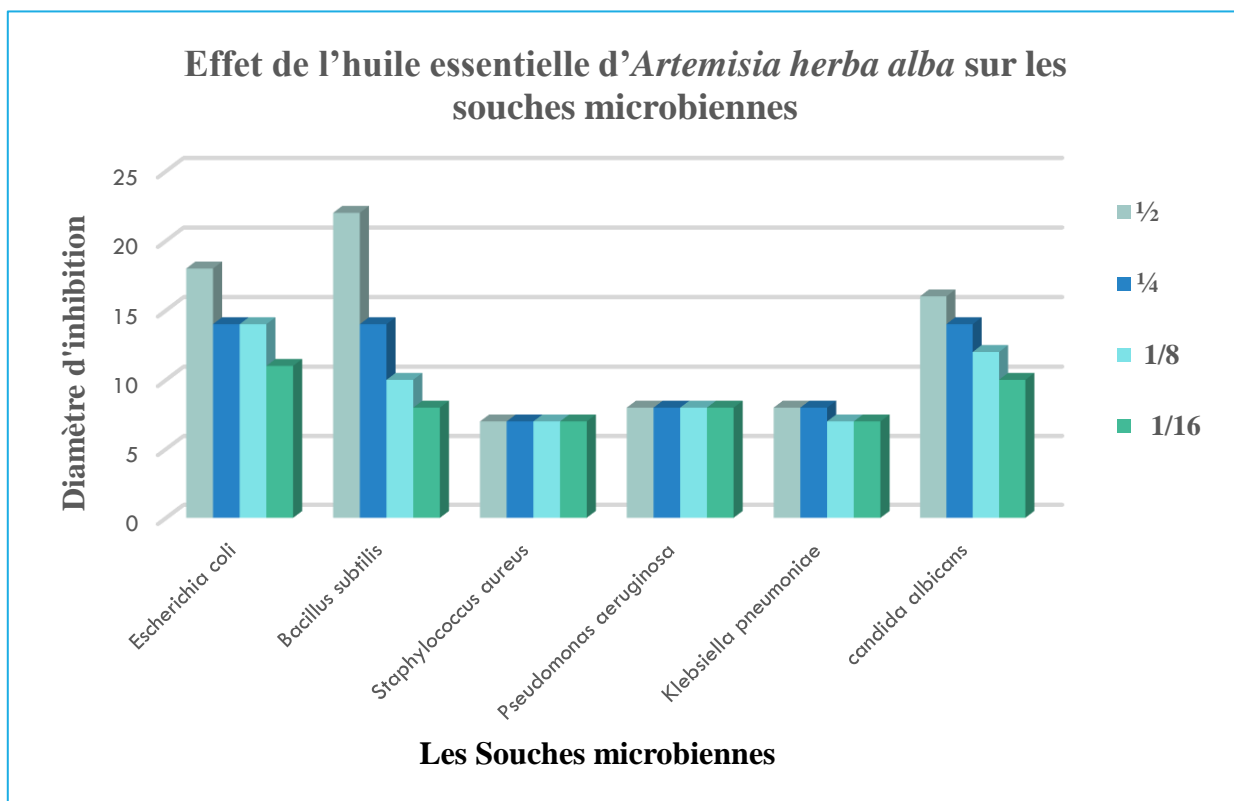


Figure 16. Représentation graphique des diamètres d'inhibition en mm des souches testées en présence de l'huile essentielle de l'armoise blanche

D'après les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* la plus grande valeur du zone d'inhibition est observée chez la levure *Candida albicans* soit 30 mm. Suivie par *E. coli* avec 26 mm comme diamètre, Tandis que la valeur de la souche *Pseudomonas aeruginosa* présente 14 mm comme la plus faible zone d'inhibition parmi les souches testées.

I.2. Effet de l'huile essentielle *Rosmarinus officinalis* sur la croissance des souches testées

Les résultats de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle *Rosmarinus officinalis* sur les souches microbiennes sous l'action de différentes concentrations de l'huile, sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7. Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) de différentes souches microbiennes en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle *Rosmarinus officinalis*.

| Concentration \ Souche microbienne | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|------------------------------------|-----|-----|-----|------|
| <i>Escherichia coli</i> | 18 | 14 | 14 | 11 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 22 | 14 | 10 | 8 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 7 | 7 | 7 | 7 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 8 | 8 | 8 | 8 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 8 | 8 | 7 | 7 |
| <i>candida albicans</i> | 16 | 14 | 12 | 10 |

Grâce aux résultats obtenus, il a été révélé qu'il y avait un effet antimicrobien de l'huile essentielle *Rosmarinus officinalis* sur la majorité des souches testées avec les différentes concentrations.

Les résultats du Tableau 7 montrent que *R. officinalis* est très active sur la levure *Candida albicans* pour les concentrations 1/2, 1/4, 1/8 et 1/16. Avec des zones d'inhibition allant de 16 mm à 10 mm. De 22 à 10 mm pour *Bacillus cereus* et 18 à 11 mm pour *E. coli*.

Par ailleurs les HEs de *Rosmarinus officinalis* apparaissent moins actives, avec des zones d'inhibition inférieure à 8 sur les souches *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*., avec toute les concentrations de l'huile utilisées (Fig 17).

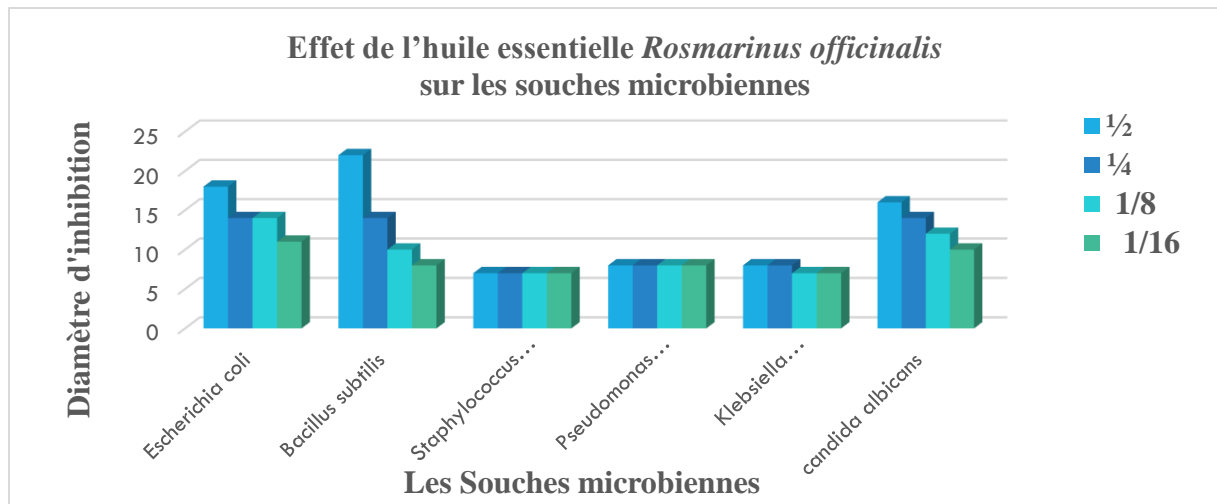
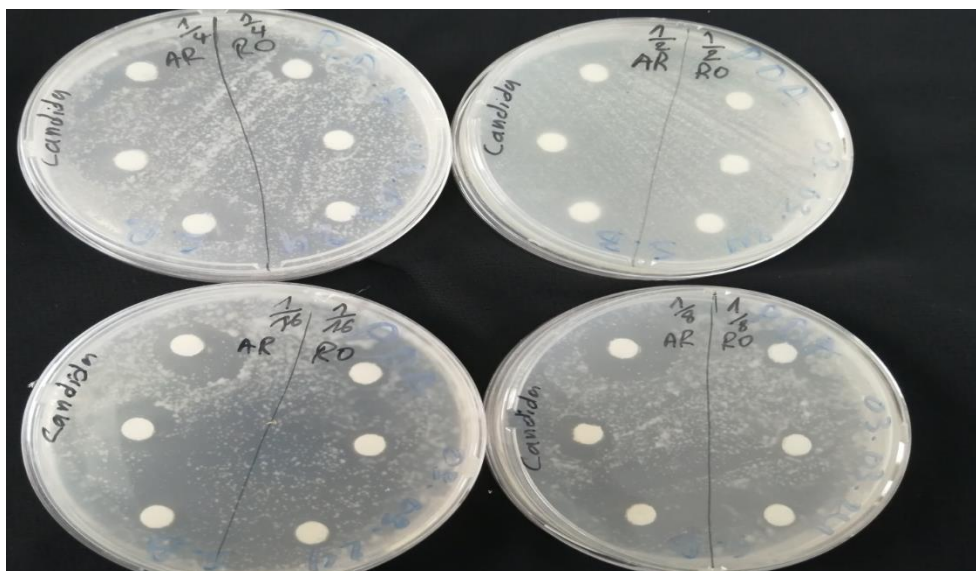


Figure 17. Représentation graphique des diamètres d'inhibition en mm des souches testées en présence de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

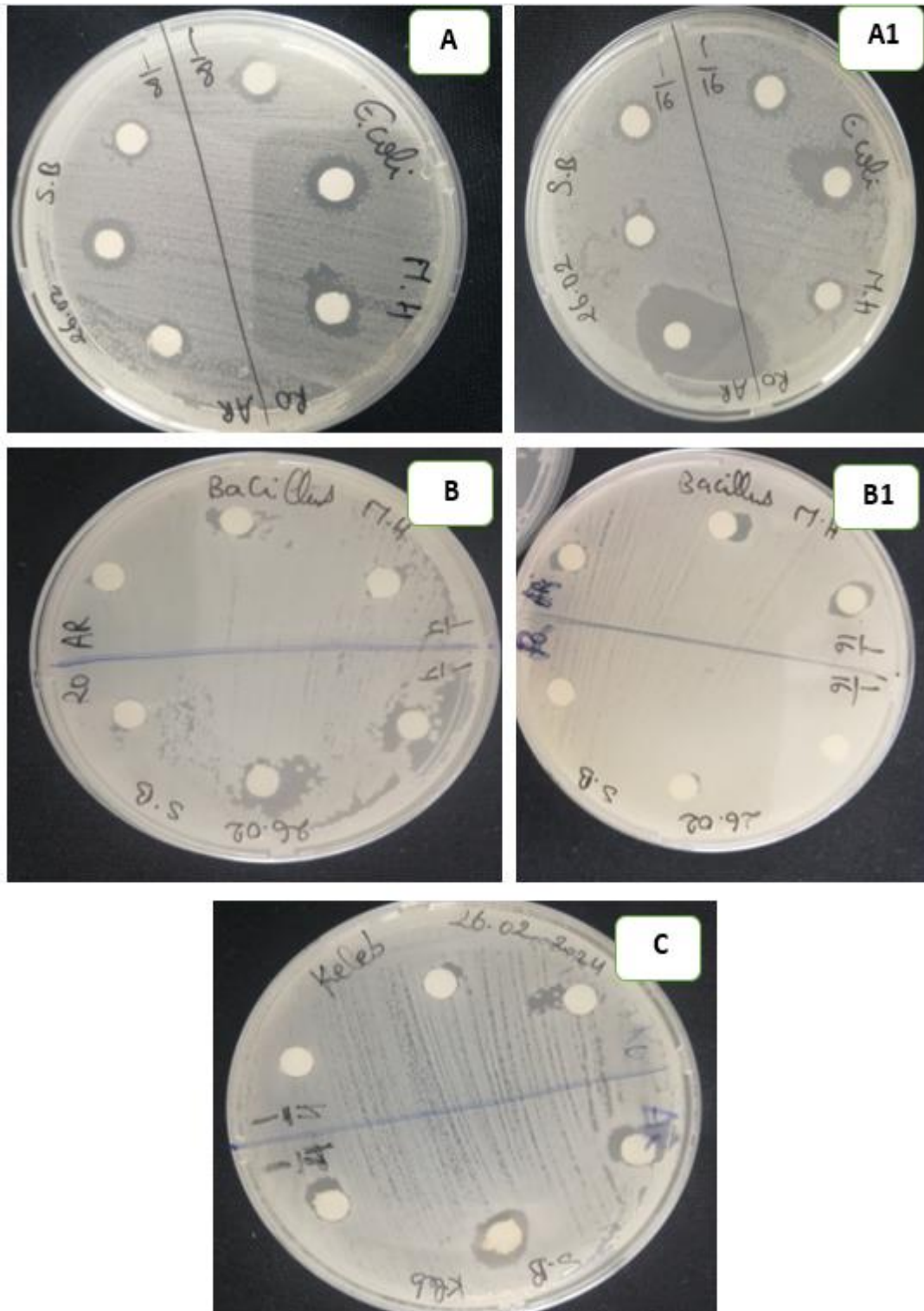
D'après les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, la plus grande valeur de la zone d'inhibition est observée chez la souche *Bacillus cereus* suivie par *Escherichia coli* et levure *Candida albicans*, contrairement aux souches *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* qui montrent une très faible sensibilité avec des diamètres d'inhibition inférieur à 8.

La Photographie 4 montre quelques images des zones d'inhibition sous l'action des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* sur la levure *Candida albicans*.



Photographie 4. Effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* sur la levure *Candida albicans*

La Photographie 5 montre quelques images des zones d'inhibition sous l'action des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* sur les différentes souches bactériennes.



Photographie 5. Effet des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* sur les souches *E. coli* (A,A1) *B. cereus* (B,B1) et *K. pneumoniae*(C).

D'après les résultats obtenus, il apparaît que les deux HEs utilisés inhibent la croissance des souches testées avec des degrés de sensibilité différents. Cette sensibilité est attribuée principalement à l'activité antibactérienne des molécules lipophiles capables de pénétrer la double couche phospholipidique, entraînant alors un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire (Calsamiglia et al., 2007).

Toutefois, l'HEs d'*A. herba Alba* présente une activité antibactérienne considérable à l'égard de ces souches et en comparant avec l'huile de *Rosmarinus officinalis* qui n'est pas efficace contre toutes les souches (aucune activité signalée contre les souches *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*), cette activité peut être expliquée par leurs richesses en composés oxygénés (chrysothénone, camphre, α -terpin-7-al et trans- β -terpinéol) Ghanmi et al. (2010) et Zouari et al. (2010) ont testé l'activité de cette huile vis-à-vis de différentes souches Gram négatif, notamment sur *E. coli* qui a révélé une zone d'inhibition de $11,33 \pm 0,6$ mm, Sachant qu'ils ont utilisé 10 μ l de l'HE brute.

Tandis que celle de *R. officinalis* a affichée une activité modérée si non moyennement faible vis-à-vis de toutes les bactéries testées.

Nos résultats sont en général en accord avec ceux rapportés par la littérature. Les résultats obtenus avec les bactéries *E-coli* et *S. aureus* sont en accord avec ceux obtenus par (Goudjil et al., 2016). *E-coli* (12,2 mm), *S. aureus* (11,33 mm). Alors que (Zouari et al., 2010) montre que l'HE d'*Artemisia herba alba* n'est pas active totalement sur *P. aeruginosa* contrairement à ce que nous avons également obtenu pour notre huile.

Pour *Klebsiella pneumoniae*, notre huile d'*Artemisia herba alba* a montré une activité élevée (16 mm) une différence des résultats est remarquée avec celle de (Akrouit et al., 2010) qui a réalisé une étude avec l'huile essentielle extraite de feuilles d'*Artemisia herba alba* du sud de la Tunisie, qui a trouvé une inactivité contre cette bactérie. Ainsi que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* de l'ouest du Maroc a été mis en évidence par (Imelouane et al., 2010) qui a montré une activité contre *K. pneumoniae* de (16 mm).

Nombreux chercheurs ont confirmé l'effet antibactérien de l'huile d'armoise blanche et romarin vis-à-vis *B.cereus* (Kechker et al., 2017) ont montré que *Bacillus cereus* manifeste une sensibilité a l'HEs brute de l'armoise blanche qui est considérée avec respectivement modérément (19mm).

Il y a des résultats opposés à nos résultats (Mathlouthi et al., 2009) Ont été déclaré que le romarin n'inhibe pas la croissance de *Bacillus cereus* .

II. Etude de l'activité antifongique

L'activité antifongique des huiles essentielles a été testée par la méthode de diffusion et l'appréciation des diamètres des zones d'inhibition *in vitro*.

II.1. Effet de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *R. officinalis* sur la croissance d'*Aspergillus niger*

Après 7 jours d'incubation à 25°C, les résultats obtenus montrent que les diamètres de croissance varient significativement en fonction des concentrations des huiles essentielles testées.

En absence d'extraits d'huile essentielle (témoin en présence de tween), on remarque la une croissance mycélienne importante d'*Aspergillus niger*, alors qu'en présence de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis*, la croissance mycélienne est significativement diminuée jusqu'à inhibition complète et ceci en fonction de la concentration utilisée (Tab 8).

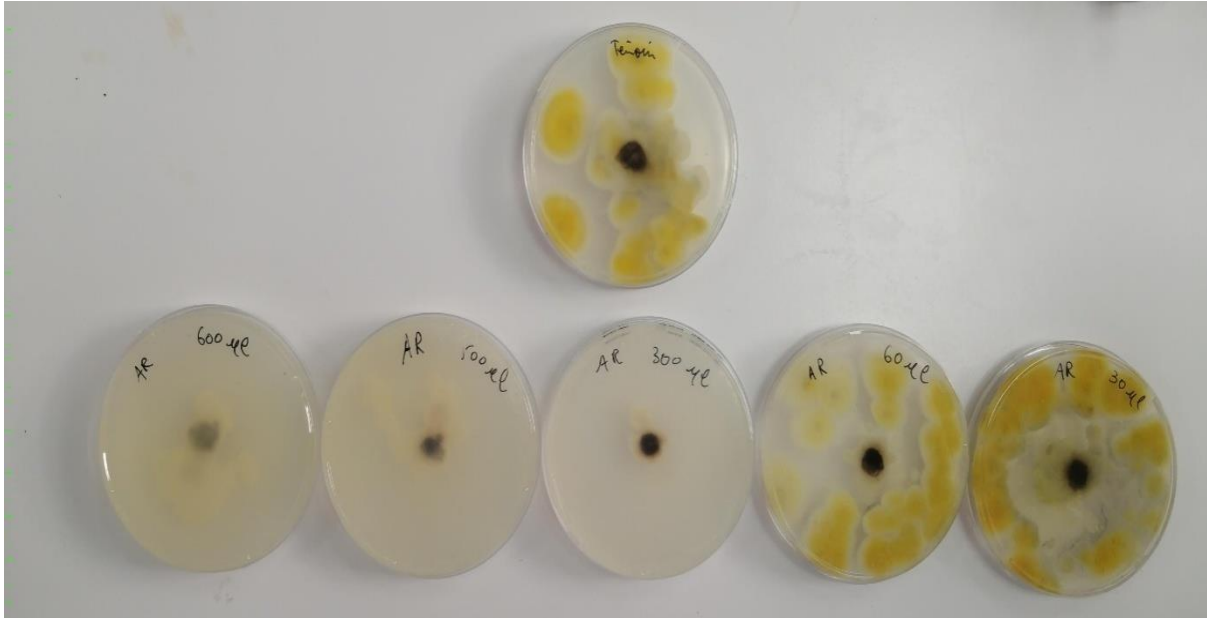
Tableau 8. Effet des HEs d'*A. Herba alba* et *R. officinalis* sur la croissance d'*Aspergillus niger*

| Jours Concentrations | <i>A. Herba alba</i> | | | | | | | <i>R. officinalis</i> | | | | | | |
|-------------------------|----------------------|----|----|----|-----|-----|-----|-----------------------|----|----|----|-----|-----|-----|
| | J1 | J2 | J3 | J4 | J5 | J6 | J7 | J1 | J2 | J3 | J4 | J5 | J6 | J7 |
| <i>Témoin</i> | +/- | + | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +/- | + | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ |
| 30 | - | + | + | ++ | +++ | +++ | +++ | - | - | + | + | ++ | +++ | +++ |
| 60 | - | - | - | + | ++ | +++ | +++ | - | - | + | ++ | ++ | +++ | +++ |
| 300 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 500 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 600 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

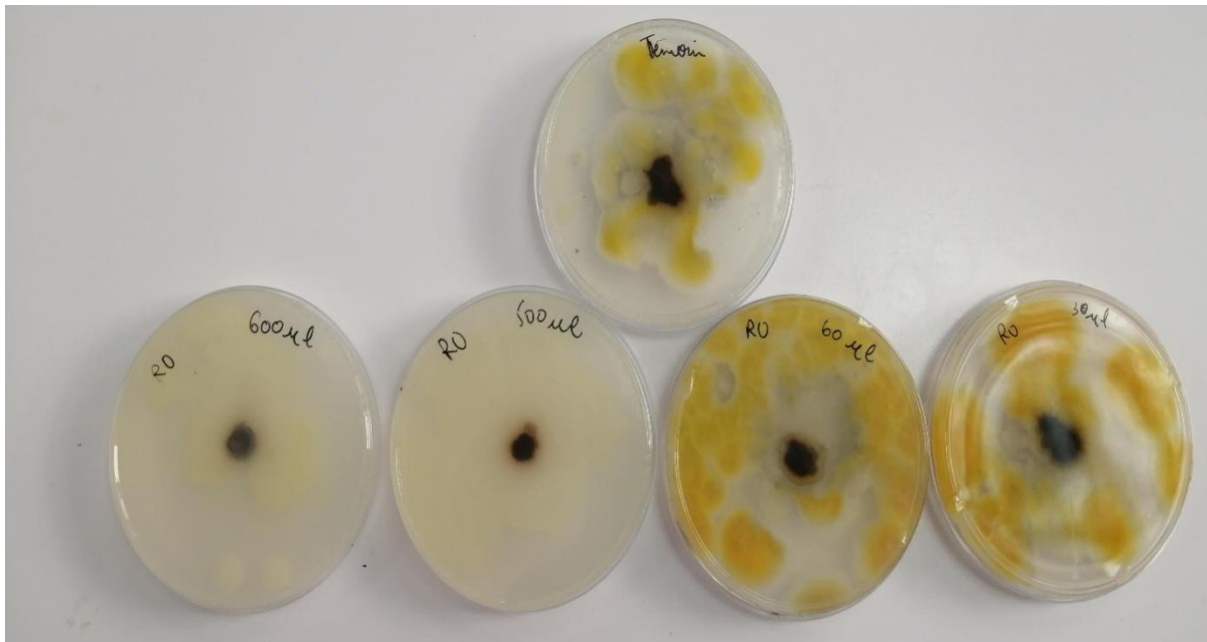
+ : croissance mycélienne

- : Absence de la croissance mycélienne

On remarque d'après les résultats de lecture qu'il y a une activité contre les champignon, mais seulement avec les fortes concentrations des deux huiles utilisés (300 ,500, et 600 microlitre).*R.officinalis*(Photo 6) et *A.herba alba* (Photo 7).



Photographie 6. Étude la croissance de *Aspergillus niger* sous effet d'huile essentielle de *R.officinalis*



Photographie 7. Étude la croissance de *Aspergillus niger* sous effet d'huile essentielle d'*A.herba alba*

D'après ces résultats, il apparaît clairement que la croissance est visible dès les premiers jours d'incubation pour les faibles concentrations de 30 et de 60 alors que pour les fortes concentrations (300, 500, et 600), aucune croissance n'a été observée pendant les sept jours d'incubation avec les deux huiles *Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba*.

Le témoin a montré des valeurs croissantes tout au long de la période d'incubation, ceci implique que l'activité antifongique est due uniquement aux substances renfermées dans les deux huiles utilisées.

Les mécanismes d'action des huiles essentielles par lesquels la croissance mycélienne peut être réduite ou totalement inhibée ont été proposés. Ainsi, (Lucini et al., 2006 ; El badawy et al., 2014) ont indiqué que les huiles essentielles agiraient sur l'hyphe du mycélium, ce qui provoque la sortie des composants du cytoplasme, la perte de la rigidité et l'affaiblissement de l'intégrité de la paroi cellulaire de l'hyphe, entraînant son effondrement et la mort du mycélium.

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles du romarin et de l'armoise blanche pourrait être attribué à la présence de composants antifongiques classés dans la liste des constituants à activité antifongique tels que : le myristicine, le curcumène, le caryophyllène, l'élémicine, le pinène, le teroinène et le terpinolène (Duke, 2009).

L'estimation donnée par (Moreira et al., 2005 ; Djeddi et al., 2007), nous a permis de considérer *Candida albicans*, *Aspergillus niger* comme des souches extrêmement sensibles aux huiles essentielles étudiées.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par (Santoyo et al., 2005 ; Celiktas et al., 2007). qui ont montré que l'huile essentielle de romarin présente une activité antifongique importante.

III. Etude de l'association « huile essentielle/antibiotique »

Dans le cadre de notre étude six antibiotiques (OFX, PT, TE, SP, F, OX) ont été utilisés en combinaison avec les deux huiles essentielles étudiées (*A. herba alba* et *R. officinalis*), les résultats des tests sont présents dans les tableaux 10 et 11.

III.1. L'antibiogramme

Afin d'évaluer la sensibilité des souches bactériennes, six antibiotiques appartenant à différentes familles ont été utilisés et les résultats sont mentionnés dans le tableau (9).

Tableau 9. Résultats de l'antibiogramme vis-à-vis les souches à testées

| <i>Souche</i> <i>ATB</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Bacillus cereus</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
|-----------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Nitrofurantoïne | S | R | S | R | R |
| Ofloxacine | S | S | S | S | R |
| Pristinamycine | R | R | S | R | R |
| Tétracycline | S | R | S | R | R |
| Oxacilline | R | R | S | R | R |
| Sulfamide | S | R | S | S | R |

(R):souche résistante.

(S):souche sensible.

Staphylococcus aureus montre une sensibilité vis-à-vis les six antibiotiques utilisés. Tandis que *Bacillus cereus* sensible seulement à l'ATB Ofloxacine, alors que la souche *K. pneumoniae* montrée une résistance à tous les antibiotiques testés. Concernant *P. aeruginosa*, elle ne montre une sensibilité qu'avec l'ofloxacine, et Sulfamide.

Pour la souche *E. coli* est sensible à l'ofloxacine, Nitrofurantoïne, Tétracycline et sulfamide.

III.2. Etude d'effet de combinaison huile essentielle /antibiotique

Les tableaux 10 et 11 Montrent les résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* respectivement avec de différents disques d'antibiotiques.

Tableau10. Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba* et de différents disques d'antibiotiques

| La plante | <i>Artemisia herba alba</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------------|------|----|-----|----|----|--------------------------|----|----|-----|----|----|------------------------------|----|----|-----|----|----|-------------------------------|----|----|-----|----|----|------------------------------|----|----|-----|----|----|
| Les souches | <i>Escherichia coli</i> | | | | | | <i>Bacillus subtilis</i> | | | | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | | | | | | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | | | | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | | | | |
| ATB Concentrations | OX | F | SP | OFX | PT | TE | OX | F | SP | OFX | PT | TE | OX | F | SP | OFX | PT | TE | OX | F | SP | OFX | PT | TE | OX | F | SP | OFX | PT | TE |
| 1/2 | 24 | 33,5 | 20 | 32 | 34 | 36 | 8 | 12 | 10 | 34 | 7 | 10 | 10 | 12 | 11 | 25 | 8 | 10 | 10 | 16 | 10 | S | 10 | 10 | 10 | 12 | 9 | S | 10 | 10 |
| 1/4 | 22 | 30 | 20 | 33 | 30 | 34 | 8 | 12 | 9 | 30 | 7 | 10 | 8 | 12 | 8 | 25 | 8 | 10 | 14 | 16 | 14 | S | 10 | 10 | 10 | 12 | 9 | S | 10 | 10 |
| 1/8 | 24 | 31 | 20 | 31 | 30 | 34 | 8 | 12 | 8 | 32 | 8 | 10 | 10 | 12 | 8 | 25 | 10 | 9 | 14 | 14 | 16 | S | 10 | 10 | 14 | 12 | 9 | S | 10 | 10 |
| 1/16 | 18 | 30 | 14 | 30 | 28 | 30 | 8 | 12 | 8 | 32 | 8 | 10 | 10 | 10 | 10 | 25 | 11 | 10 | 10 | 10 | 14 | S | 10 | 10 | 10 | 12 | 9 | S | 10 | 10 |

Tableau 11. Résultats des diamètres des zones d'inhibition (mm) en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle *Rosmarinus officinalis* et de différents disques d'antibiotiques.

| La plante | <i>Rosmarinus officinalis</i> |
|-----------|-------------------------------|
|-----------|-------------------------------|

| Les souches | <i>Escherichia coli</i> | | | | | | <i>Bacillus subtilis</i> | | | | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | | | | | | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | | | | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | | | | |
|-----------------------|-------------------------|------|----|-----|----|----|--------------------------|----|----|-----|----|----|------------------------------|----|----|-----|----|----|-------------------------------|----|----|-----|----|----|------------------------------|----|----|-----|----|----|
| ATB Concentrations | OX | F | SP | OFX | PT | TE | OX | F | SP | OFX | PT | TE | OX | F | SP | OFX | PT | TE | OX | F | SP | OFX | PT | TE | OX | F | SP | OFX | PT | TE |
| $\frac{1}{2}$ | 21 | 33,5 | 20 | 32 | 34 | 36 | 8 | 12 | 8 | 35 | 7 | 10 | 9 | 12 | 10 | 25 | 8 | 10 | 10 | 16 | 10 | S | 10 | R | 10 | 12 | 9 | S | 10 | 10 |
| $\frac{1}{4}$ | 21 | 30 | 20 | 33 | 30 | 34 | 8 | 12 | 8 | 36 | R | 10 | 8 | 11 | 8 | 25 | 7 | 11 | 14 | 16 | 14 | S | 10 | 10 | 10 | 12 | 9 | S | 10 | 10 |
| $\frac{1}{8}$ | 15 | 31 | 20 | 31 | 30 | 34 | 8 | 12 | 8 | 34 | 8 | 10 | 10 | 12 | 8 | 25 | 9 | 9 | 14 | 14 | | S | 10 | 10 | 10 | 12 | 9 | S | 10 | 10 |
| $\frac{1}{16}$ | 14 | 30 | 14 | 30 | 28 | 30 | 8 | 12 | 8 | 34 | 9 | 10 | 12 | 12 | 10 | 25 | 11 | 10 | 10 | 10 | | S | 10 | 10 | 10 | 12 | 9 | S | 10 | 10 |

Le tableau 10 et 11 représentent les résultats obtenus avec l'utilisation de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis*, après la comparaison entre les diamètres des disques d'antibiotiques combinés à l'huile essentielle à différentes concentrations de l'huile, à celle de l'huile seule, sur les différentes souches bactériennes, nous constatons que le diamètre obtenu de l'huile utilisée seule est bien inférieur à ceux des combinaisons dans le cas de toutes les souches utilisées. (Photo 8 et 9).

L'analyse des données montre que l'association de l'HE de *Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* a donné une interaction indifférente en association avec SP et OX et un effet synergique en association avec TE, PT, OFX, F pour souches *E. coli* par rapport à celle de l'huile seule, avec des diamètres des zones d'inhibition de 26 mm pour l'huile *Artemisia herba alba* seule et 36 mm en association avec l'ATB, Tandis que l'huile *Rosmarinus officinalis* seule a donné une zone d'inhibition de 18 mm, et 36 mm pour en association avec les différents ATB utilisés.

Les souches *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* ont montré une résistance à tous les antibiotiques testés seuls, Par contre son association avec l'HEs de *Artemisia herba alba* ainsi que *Rosmarinus officinalis* révèle un effet moyennement synergique, ceci se montre par une augmentation des zones d'inhibitions par rapport à celle de l'ATB seul.

De nombreux travaux rapportés que l'activité biologique d'une huile essentielle est en rapport avec les composés majoritaires, plus particulièrement la nature de leurs groupements fonctionnels et les possibles effets synergiques entre les constituants (Oussou et al., 2008), cette activité est encore attribuable à une ou plusieurs molécules actives présentes même en faible proportion dans les huiles essentielles qui peuvent agir de manière synergique (Daouda, 2015 ; Lahlou, 2004).

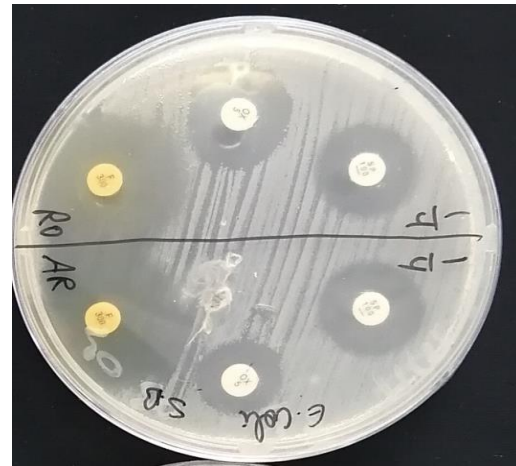
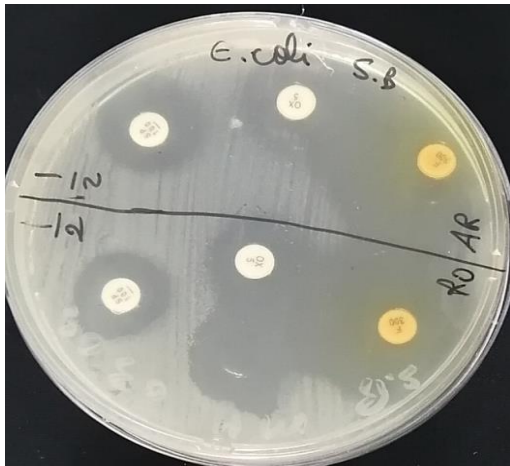
L'activité antimicrobienne des huiles essentielles dépend également du type des microorganismes ciblés, elle est variable d'une souche bactérienne à une autre. Elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques (Oussou et al., 2008), En effet dans cette étude, toutes les huiles essentielles examinées ont montré une activité antimicrobienne vis-à-vis des souches testées.

L'effet synergique des combinaisons HEs/ATB contre les bactéries Gram- a été rapporté par (Durate et al., 2012), qui ont montré que l'essence de coriandre exerce une activité synergique

contre *A.baumannii*, lorsqu'elle est associée avec des antibiotiques conventionnels (gentamicine, ciprofloxacine et tétracycline).

D'autre part, (D'Arrigo et *al.*, 2010) ont montré que l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* exerce une activité synergique contre *E. coli* lorsqu'elle est associée avec la Tobramycine.

Les activités variables observées avec les différentes huiles (synergie, antagonisme et indifférence), peuvent être expliquées par le mode d'action des composés des HEs, les composés des différentes HEs ne réagissent pas de la même manière en les combinant avec les antibiotiques testés. (Gallucci et *al.*, 2006) ont rapporté dans leur étude que l'utilisation des terpènes combinés avec la pénicilline a pu augmenter l'activité de ces dernières contre des souches bactériennes à Gram négatif en leur conférant une meilleure capacité de transport à l'intérieur de la cellule bactérienne.



a- Images montrant les zones d'inhibition d'*E. Coli* sous l'action de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* et différents disques d'antibiotiques.

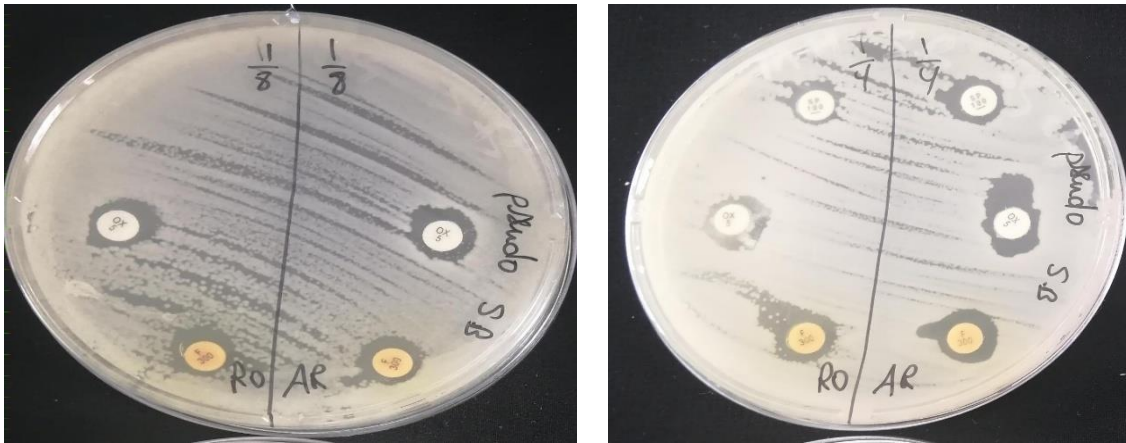


b- Images montrant les zones d'inhibition de *B.cereus* sous l'action de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* et différents disques d'antibiotiques.



c- Images montrant les zones d'inhibition de *S.aureus* sous l'action de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* et différents disques d'antibiotiques.

Photographie 8. Images montrant les zones d'inhibition des souches bactériennes sous l'action de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* et différents disques d'antibiotiques. a- *E.coli*, b- *B.cereus* et c- *S.aureus*



a- Images montrant les zones d'inhibition de *P.aeruginosa* sous l'action de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* et différents disques d'antibiotiques.



b- Images montrant les zones d'inhibition de *K.pneumoniae* sous l'action de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* et différents disques d'antibiotiques.

Photographie 9. Images montrant les zones d'inhibition des souches bactériennes sous l'action de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis* et différents disques d'antibiotiques. a- *P.aeruginosa*, b- *K.pneumoniae*

Conclusion et Perspectives

L'axe de notre recherche couvre l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso et *Rosmarinus officinalis*, différentes souches microbiennes et leurs associations aux antibiotiques auxquelles elles sont résistantes.

En effet, ce travail a permis d'atteindre les objectifs que nous avons fixé au début, d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes médicinales aromatiques qui sont *Artemisia herba alba* Asso et *Rosmarinus officinalis* sur les différentes souches d'une part et d'évaluer l'efficacité de leur association avec les antibiotiques.

Les deux huiles essentielles se sont montrées efficaces contre les souches testées, cependant, l'huile essentielle de *Artemisia herba alba* Asso a manifesté le plus grand pouvoir antimicrobien avec des diamètres importants d'activité allant de 26 mm à 30 mm avec les souches bactériennes et avec une activité plus prononcée sur la levure testée, Tandis que celle de *R. officinalis* a affichée une activité modérée si non moyennement faible vis-à-vis de toutes les bactéries testées.

Une inhibition complète de la croissance du champignon *Aspergillus niger* a été remarquée avec les différentes concentrations utilisées des deux huiles. Ce qui peut s'expliquer par le profil chimique des huiles riche en composés connus pour leur pouvoir antibactérien tels que les cétones.

Les résultats de l'association des huiles essentielles étudiées avec les différents antibiotiques ont donné diverses interactions contre les différentes souches utilisées (des interactions synergiques, et interactions indifférentes). Ces résultats témoignent du grand potentiel que présentent les huiles essentielles pour accéder aux différentes cibles cellulaires de ce fait, la résistance aux antibiotiques sera limitée.

A l'issue de ce travail, nous émettons quelques réflexions et recommandations sous forme de perspectives pour l'amélioration de l'utilisation des huiles essentielles utilisées

- ✓ D'autres études de l'association « huiles essentielles/antibiotiques » sont recommandées afin d'aller plus loin dans la recherche concernant ce domaine.
- ✓ Une étude de conception d'une formule médicamenteuse qui combine entre les antibiotiques et les huiles essentielles présentant des effets synergiques en association et ce dans le but de lutter contre les bactéries manifestant une résistance aux agents antibactériens.
- ✓ L'application de cette formule médicamenteuse *in vivo* pour vérifier l'efficacité de cette formule et connaître leurs effets secondaires possible.

Références Bibliographiques

A

Abdessultane Mouna, sidamar Ahmed., 2017. " Effet du Romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur la conservation traditionnelle des dattes dans la région d'Adrar". Thèse de doctorat, Université Ahmed Draia-ADRAR.

Aissaoui, I., Belaid, K., 2020. Contribution à l'étude phytochimique de Quatre Plantes médicinales (A. herba Alba Asso, A. compestris L, Juniperus phoenicea et Rosmarinus officinalis) de la région d'oued Souf.P : 20.

Akrout A., El jani H., Amouri S et al., 2010. Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia herba alba asso* and *Thymus capitatus* hoff et link growing wild in the southem of Tunisia. Recent research in science and technology. 2(1), 29-39.

Amarti F., Satrani B., Aafi A., Ghanmi M., Farah A., Aberchane M., El Ajjouri M., El Antry S et Chaouch A., 2008. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. Phytothérapie. 6, 342–347.

Amarti F., El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Farah A., Khia A., Guedira A., Rahouti M. Chaouch A., 2011. "Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc", Phytothérapie, V.9, n° 3, 149-157.

Arnold N., Valentini G., Bellomaria B., Laouer H.,1997. Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan et Fourr. From Algeria and *R. officinalis* L. from other countries. Journal of Essential Oil Research. P 167-175.

Arslan , Derya, Musa Ozcan M., 2007. Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. Energy Conversion and Management. Volume 49, Issue 5.

Ayad N., Hellal B., Hellal T., Rahmani A. et Bensmira Z., 2014. Qualités nutritionnelles de l'armoise blanche des parcours steppiques du sud de la préfecture de Tlemcen. Revue Ecologie-Environnement (10), 71-74.

B

Références Bibliographiques

- Baba-Aissa**, F.,1991. Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchéne et Ad.Diwan. Alger,181.
- Bachene** Lynda, Benattia Fouzia., 2020. " Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne du *Rosmarinus officinalis L*" Mémoire de Master, P :2.
- Bali**, N.,2015. "Modélisation du transfert de matière dans les procédés d'extraction traditionnels ". Thèse de doctorat .5- 6.
- Barbouche**, Naima, Mohamed Ammar, Hajjem, Béchir, Lognay, Georges., 2001. Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui L'Hérit.* (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). Biotechnology, Agronomy and Society and Environment. 2001 5 (2), 85–90.
- Beloued** Abdelkadar., 2001. Plante médicinales d'Algérie, Office des publications universitaire. P :203.
- Ben kadi**, Y., Abdenabi, k., Draoui, k., Chergui, Y., 2022. Extraction d'huile essentielle et l'activité anti-oxydante de la plante *Mentha puliguim* (mémoire de master, université ahmed draia-adrar).13.
- Bencheikh**, S. E., 2017. "Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium ssp Aurasianum Labiatae*". Thèse de Doctorat. P : 25.
- Bencheikh**, S., 2018. Variation de la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles et des polyphénols d'*Artemisia herba alba* et d'*Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Thèse de Doctorat. Université Saad dahlab de blida. P :28.
- Bérenge**, R. S, Goetz, P, Paris. M., 2000. Les plantes médicinales. selection du rearer's digest. Paris, P: 235.
- Bernard** T., Perinau F., Brav O., Delmas M., Gaset A., 1988. Extraction des huiles essentielles. Chimie et technologie : Information chimie, n.298, P :179-184.
- 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). Phytothérapie., 8: 277–281.
- Bohra**, B. E. N. G. O. U. M. A. N. E., Ghalia, S. R., 2021. Evaluation des activités biologiques des extraits phénoliques de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*), Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Tiaret, P :12.

Références Bibliographiques

Boudraa Amina ; Djabri Rihana ; Manseur Chaima., 2020. "Contribution à l'étude du pouvoir antibactérien d'*Artemisia herba alba* Asso«chih»". Thèse de Doctorat. Université laarbi tebessi Tebessa , P : 3-9.

Boukhatem, M. N., Ferhat, A., Kameli, A. ,2019 . Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. Une, 3(4), 1653-1659.

Bounab, S., 2020. "Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila) Etude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales ", Thèse de Doctorat. P :13.

BousbiaNabil., 2011. " Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ". Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger.P :57.

Bouzidi, N., 2016. "Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche «*Artemisia herba alba* Asso»", Thèse de Doctorat, Université Mustapha Stambouli – Mascara P : 25-27.

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, Lavoisier, P: 623 (Techniques et Documentation).

C

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo PW., Castillejos L et Ferret A., 2007. Invited Review : Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science. 90,2580- 259.

Celiktas O. Y., Kocabas E. E. H., Bedir E. , Sukan F. V., Ozek T., Baser K.H.C., 2007. Antimicrobial activities of Methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations, Food Chemistry, V.100, 553-559.

Chekoual, L., 2019. "Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant d'huiles essentielles de *Lavandula stoechas* du nord d'Algérie extraites par hydrodistillation et ultrasons "Thèse de Doctorat, Université Blida1-Saad Dahlab. P: 32.

D

D'Arrigo M., Ginestra G., Mandalari G., Furneri PM et Bisignano G., 2011. Synergism and post antibiotic effect of Tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (teatree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Phytomedicine. 17,317–322.

Références Bibliographiques

Daouda M.T., 2015. Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'Ivoire. Thèse de doctorat, Université de Félix Houphouët-Boigny.

Debuigne G., Couplan F., Vignes P., Vignes D., 2009. Petit Larousse des plantes médicinales. Paris : Larousse, 2009, P: 383.

Deschepper, R., 2017. "Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie". Thèse de doctorat. P :10 -28.

Djeddi S., Bouchenah N., Settar I. Skaltsa HD., 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria, Chemistry of Natural Compounds, V. 43, n° 4, 487-490.

Djeridane A., Yousfi M., Brunel J.M. Stocker P., 2010. "Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants", Food and Chemical Toxicology., V. 48, 2599–2606.

Duke J., 1992. Handbook of phytochemical constituents of gras herbes and othereconomic plants. Boca. Raton FL. CRC Press.

Durate A., Silva F, Ferriera S et Domingues FC., 2012. Synergitic activity of coriander oil and conventional antibiotics against *Acinetobacter baumannii*. Phytomedecine.19, 236-8.

E

El Badawy M. E. I. and Abdelgaleil S. A. M., 2014. Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. Industrial crops and products; 52: 776 -782.

El Haib, A., 2011. "Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques". Thèse de Doctorat, Université de Toulouse, Université Toulouse, P :9-12.

F

Faïza, Baghloul., 2018. "Bio-décontamination en agro-alimentaire par des molécules bio actives naturelles d'une plante médicinale: *Rosmarinus officinalis* ". Thèse de Doctorat.

Farhat, A. 2010. Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des

Références Bibliographiques

Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).

Fekih, N. ,2014. "Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie". Thèse de Doctorat, Es-Sciences en Chimie. Option : Chimie Organique Appliquée.

Fenardji, F., Klur, M., Furlon, C., Ferrando, R., 1974. Contribution à l'étude de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba L.*). Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, 27(2), 203-206.

Fournier, P., 1999. Plantes médicinales. Livre, Tome3. CME. ISBN : 2-919911-09-0. P: 336.

G

Gallucci N., Casero C., Oliva M., Zygadlo J et Demo M., 2006. Interaction between terpenes and penicillin on bacterial strains resistant to beta-lactam antibiotics. Molecular Medicinal Chemistry. 10, 30-32.

Gast, M.,1989. Armoise. Encyclopédie berbère, (6), 905-908.

Gavahian, M., & Chu, Y. H. 2018. Ohmic accelerated steam distillation of essential oil from lavender in comparison with conventional steam distillation. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 50, 34-41.

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

Goudjil MB., 2016. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques, Thèse de doctorat : Génie des procédés et environnement. OUARGLA : université Kasdi Merbah, 385p. disponible sur : <http://www.researchgate.net/profile> (consulter le 22.02.2020).

Guerrouf, A., 2017. "Application des huiles essentielles dans la lutte microbienne cas d'un cabinet dentaire". Thèse de Doctorat. P :11- 12.

H

Halal Y., 2010. Etude et biomasse du Romarin (*Romarinus officinalis L.*) dans le massif des Béni-Imloul-Aures-Algérie, université de la foresterie, P :71.

Références Bibliographiques

Hoefler, C., 1994. " Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques " Thèse de Doctorat en pharmacognosie. Univ de METZ. P :9-18.

Hudaib, M.M., Aburjai, T.A., 2006. Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* grown in Jordan. *Journal of Essential Oil Research*. 18, 301–304.

I

Imelouane B., Elbachiri A., Ankit M et al., 2010. Physico-chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of erastem Moroccan *Lavandula dentata*. *International journal of agriculture and biology* 11(2): 113-118.

J

Jaouadi, I. Ayse Tansu, Koparal Rakibe Beklem, Bostancioğlu Mbarka Tej, Yakoubi ; Mohamed El Gazzah., 2014. The anti-angiogenic activity of *Artemisia herba-alba*'s essential oil and its relation with the harvest period, *Australian Journal of Crop Science*, V. 8, n° 10, (2014), 1395-1401.

Joachim., D., 1999. "Huiles essentielles de quelques plantes aromatiques des genres *Eucalyptus* et *Melaleuca* (Myrtacees) et *Chenopodium* (Chenopodiacees) du Bénin: variations inter et intraspecifics du rendement et de la composition chimique et propriétés pharmacodynamiques". Thèse de Doctorat. Université Nationale Du Bénin. P : 24.

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(2–3), 175–182.

Justine, M. N., 2019. "Les dangers de l'utilisation abusive des huiles essentielles", Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Lille 2. P : 22-23.

K

Kaloustian, J.; Hadji-Minaglou, F. 2012. La connaissance des huiles essentielles : Qualitologie et aromathérapie : entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Collection Phytothérapie pratique, Springer-Verlag, Paris, France.

Références Bibliographiques

Kechker i., debiche i., 2017 Etude des activités anti microbienne et antioxydante de l'huile essentielle de l'armoise blanche. Mémoire de master. Université akli mohand oulhadj – bouira. P 48.

Kempf M., Eveillard M., Kowalczyk F., Rossines E., Panhelleux G et Joly-Guillou M.L., 2011. Etude de la sensibilité de 224 bactéries isolées d'infections hospitalières vis-à-vis des composés JCA 250 et JCA 251 à base d'huiles essentielles issus de la recherche. *Aroma Technologies Pathologie Biologie*. 59, 39–43.

Kfoury, M., 2015. "Préparation, caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion à base de cyclodextrines: applications à des principes actifs de type phénylpropanoïdes". Thèse de Doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale.4

L

Lahlou M., 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*. 2004, 18, 435-448.

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(6), 435-439.

Laouici, N , Benabdelkader, M. E., 2020. "Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait brut de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L". Thèse de Doctorat, Université de Jijel , P : 7-8.

Leplat, Marion., 2017. "Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale." Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université d'Aix-Marseille, Faculté de Pharmacie, Aix-en-Provence. P : 227.

Lucchesi, M. E.,2005. "Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles", Thèse de Doctorat, Université de la Réunion .21.

Lucini E. I., Zunino M. P. and Zygadlo J. A., 2006 Effect of monoterpenes on lipid composition and sclerotial development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *Journal of phytopathology*. Vol154, Issue 7-8 : 441 – 446.

M

Références Bibliographiques

Masango, P. 2005. Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, 13(8), 833-839.

Mathlouthi, N., Bouzaienne, T., Oueslati, I., Recoquillay, F., Hamdi, M., Bergaoui, R., 2009. Effet de deux préparations d'huiles essentielles sur la croissance des bactéries in vitro et les performances du poulet de chair. 8èmes Journée de Recherche Avicole, INRA St Malo, 454-458.

Mayer, F., 2012. "Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite", Thèse de Doctorat, Université de Lorraine. P :30.

Menaceur, F., 2015. "Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigeron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier", Thèse de Doctorat, ENSA.8- 10.

Messai I., 2011. "Etude phytochimiques d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia herba alba*)". Thèse de Doctorat en chimie organique. Université Mentouri Constantine, 47-51.

Mnayer, D. ,2014. Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Avignon. 10.

Moreira M. R., Ponce A. G., Del Valle C. E. Roura S. I., 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen, *LWT*, V .38, 565-570.

Mouas, Yamina., 2018. "Effet comparatif des parametres physiologiques, biochimiques et therapeutiques de romarin *Rosmarinus officinalis L*". Thèse de Doctorat, Université d'Aix-Marseille, P145-151.

N

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., et De Feo, V., 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474.

O

Ouguirti, N., Bahri, F., Bouyahyaoui, A., Wanner, J., 2021. Chemical characterization and bioactivities assessment of *Artemisia herba-alba* Asso essential oil from South-western Algeria. *Natural Volatiles and Essential Oils*, 8(2), 27-36.

Ouguirti, N.,2022." Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles et/ou des extraits d'*Artemisia herba-alba* et de *Capparis spinosa* de la région de Béchar". Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid ibn badis, Mostaganem. P :22.

Références Bibliographiques

Ouibrahim, A., 2016. " Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques *Laurus nobilis* L. *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L. de l'Est Algérien", Thèse de Doctorat, Annaba, Algérie, 13-17.

Ouis N., 2015. Étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil, Thèse de doctorat, UNIV, Oran, P : 20.

Ould Mohamed, Racha et Chadli, Sara., 2021. "Extraction et Activité biologique des huiles essentielles d'*Artemisia herba Alba Asso* et *Artemisia campestris* dans la Région de Tiaret". Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université de Tiaret.

Oussou K.R., Youlou S., Kanko C., Guessenn K.N., Boti J.B., Ahibo C., Casanova J., 2008. Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. *European Journal of Scientific Research*.1, 94-103.

Outaleb, Tydia.,2016. " Extraits de romarin d'Algérie *Rosmarinus officinalis* L. et *Rosmarinus tournefortii* ". Thèse de Doctorat, ENSA.

Ouyahya A.,1995. Systématique du genre *Artemisia* au Maroc. In D.J.N. Hind et al. *Advances in Compositae Systematics*: 293-354. Royal Botanic Gardens Kew.

P

Pharmacopée Européenne. 2007. Direction de la Qualité du Médicament et Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France.

Philippon A., 2008. Résistance bactérienne : définitions, mécanismes, évolution, Maladies infectieuses, 8-006-N-10, 2008, DOI : 10.1016/S1166-8598(08)26016-3

Piochon, M. ,2008. "Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse". Université du Québec à Chicoutimi. P :16.

Ponce A.G., Fritz R., Del Valle c. et Roura S.I., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm-Wiss.u.-Technology* .36. P. 679-684.

Ponce, A. G., Roura, S. I., del Valle, C. E., Moreira, M. R.,2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Post harvest biology and technology*, 49(2), P 294-300.

Références Bibliographiques

Pottier G., 1981. *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie : angiospermes dicotylédones–gamopétales, 1012.

Q

Quezel, P. et Santa, S., 1963. " Nouvelle Flore de l'Algérie et de ses régions désertiques méridionales". Tome II. Paris, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique.

R

Raaman, N. 2006. Phytochemical techniques. New India Publishing, New Delhi, Inde.

Randrianarivelo, R.,2010. "Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar *Cinnamosma fragrans*, alternative aux antibiotiques en crevetticulture." Thèse de Doctorat, Université d'Antananarivo. P :35.

Rasooli I, Mirmostafa S.A., 2003. Bacterial Susceptibility to and Chemical Composition of Essential Oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(8), 2200-2205.

Rebai h., Saidi sief Ch., 2017. Identification d'une souche cariogène *Streptococcus sp* et étude de l'action antibactérienne du miel de colza et de la propolis sur cette souche, Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine.V :(42). P-P. 21-31.

Rebhi, A. E. M., 2019. "Etude in situ des réponses d'*Artemisia herba alba* au stress dû à la pollution du chrome dans le sol de la région d'Ain oussera: application en phytoremédiation" ,Thèse de Doctorat , P : 64.

Rosato A., Piarulli M., Corbo F., Muraglia M., Carone A., Vitali M E et Vitali C., 2010. *In Vitro* Synergistic Action of Certain Combinations of Gentamicin and Essential Oils. Current Medicinal Chemistry. 17, 3289-3295.

S

Samate, D.A., 2001. "Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation., Ouagadougou, Burkina Faso.

Références Bibliographiques

Santoyo S., Caveros S., Jaime L., Ibanez E., Senoran F. J. Reglero G., 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis L.* essential oil obtained via supercritical fluid extraction”, *Journal of Food Protection.*, V. 68, n°4, 790-79.

Sutour, S., 2010. "Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats" Thèse de Doctorat, Université de Corse. P : 13.

T

Tessier A.,2003. Les plantes médicinales de Provence suivi de L'origine des noms végétaux. Paris : Ed. Médicis, 365p.

Toroglu S., 2011. In-vitro antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. *Journal of Environmental Biology.* 32 (1), 23-29.

Touhami, A., 2017. "Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement". Thèse de Doctorat, Université de Badji Mokhtar Annaba. P : 16.

Touil, S.,2018. Variation de la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles et des polyphénols d'*Artemisia herba alba* et d'*Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Thèse de Doctorat. Université Saad Dahlab de Blida P :28.

Toure, D.,2015. "Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire". Thèse de Doctorat, Université Felix Houphoet Boigny, Côte d'Ivoire .7.

Tuley. T., 1996. de Silva A manual on the essential oil industry. United Nations Industrial Development Organization P : 232.

Y

Yakhlef G., Laroui S., Hambaba L., Aberkane M.C. Ayachi A., 2011. “Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle”, *Phytothérapie*, V.9, 209-218.

Yousfi, Mohammed., 2017. "Contribution à la détermination d'un modèle d'exploitation d'un parcours steppique à base d'espèces autochtones par simulation de pacage ". Thèse de Doctorat. UB1, 56-61.

Z

Zafar A., Shaukat S., Mahnaaz Kh., Arshiya T et Zahoor A., 2010. Synergistic effect of *Salvadora persica* Extracts, Tetracycline and Penicillin Against *Staphylococcus aureus*. African Journal of Basic and Applied Sciences. 2 (1-2), 25-29.

Zaibet, W., 2018. "Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD) ", Thèse de Doctorat. P : 8-9.

Zaouali Y, Chokri M , Boussaid M, 2003. Diversité génétique des populations naturelles de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) en Tunisie. Ecologia mediterranea: International Journal of Mediterranean Ecology, tome 29 n°2. ISSN 1775-4100. P: 202.

Zouari S., Zouari N., Fakhfakh N., Bougatef A., Ayadi M. A et Neffati M., 2010. Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. Journal of Medicinal Plants Research. 4(10), 871-880.

Zoubeidi, C ., 2004. " Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis* .Labiataea". Thèse de magistère, Université de Ouargla.

Sites internet

Site 1 : https://agronomie.info/fr/rosmarinus-officinalis-l/#google_vignette, Dernière mise à jour: 2024 , Source : BOULEZAZEN, Abd Elmoumen . Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'une plante aromatique (*Rosmarinus Officinalis* L.) de la forêt Béni Melloul –Khenchela. Consulté 10 Mars 2024

Références Bibliographiques

Site 2 : <https://www.teline.fr/fr/photos/asteraceae/artemisia-herba-alba>, Dernière mise à jour: Le Mercredi 9 août 2023 , Jean-Paul Peltier. Biodiversité végétale du sud-ouest Marocain, Consulté le 10 Mars 2024

Site 3 : <https://www.teline.fr/fr/photos/asteraceae/artemisia-herba-alba>, Dernière mise à jour le mercredi 9 août 2023 à 07h25. Consulté le 27 avril 2024 .

Annexes

Annexe 01

- ❖ Composition des milieux de cultures utilisés au niveau du Laboratoire pédagogique de

| Composition | Quantité /litre |
|-------------|-----------------|
|-------------|-----------------|

la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma, sous la direction de responsable du hall de technologie Mme : Chorfi. R

- ❖ Milieux de culture utilisés (pour un litre de milieu)

Eau physiologique

Stérilisation à 120 °C/15 min

| Composition | Quantité/ litre |
|---------------|-----------------|
| NaCl | 9g |
| Eau distillée | 1L |

Compositions et préparation des milieux de culture

Gélose nutritive (GN)

Autoclaver à 120°C pendant 20mn

| Composition | Quantité /litre |
|-------------------|-----------------|
| Peptone | 5g |
| Extrait de viande | 1g |
| Extrait de levure | 2g |
| NaCl | 5g |
| Agar | 7.5g |
| pH | 7.2 |
| Eau distillée | 1L |

| Peptone tryptique de caséine | 17,5g |
|------------------------------|-----------------|
| Extrait de viande | 2g |
| Composition | Quantité /litre |
| Peptone tryptique de caséine | 17,5g |
| Extrait de viande | 2g |
| Amidon | 1,5g |
| Agar | 15 g |
| pH | 7.2 |
| Eau distillée | 1L |

Mueller Hinton

Potato Dextrose Agar PDA

Autoclaver à 120°C pendant 20mn

| Composition | Quantité /litre |
|----------------|-----------------|
| Glucose | 20g |
| Pomme de terre | 200g |
| Agar | 200g |
| pH | 6,5 |
| Eau distillée | 1L |

Nom et prénom :BENZAÏM Sofiane

Master académique en Microbiologie appliquée

Titre : Étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de deux plantes médicinales *Rosmarinus officinalis L* et *Artemisia herba alba* et l'effet de leurs associations avec les antibiotiques

Résumé

L'antibiorésistance et l'émergence récente des bactéries multirésistantes représentent un danger permanent pour la santé publique, de par leur diffusion rapide et la difficulté que rencontrent les médecins pour le traitement des infections provoquées par ces bactéries. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles issues de deux plantes aromatiques locales (*Artemisia herba alba* Asso et *Rosmarinus officinalis L*) et leurs associations avec des antibiotiques de différentes familles sur des souches microbiennes de références (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Bacillus cereus* ATCC 11778 et *Aspergillus niger* 2CA936) et une souche clinique *Candida albicans*. L'aromatogramme en milieu solide (méthodes des disques) a été utilisé pour évaluer l'activité de ces huiles essentielles ainsi que les associations huiles essentielles /antibiotiques. Les résultats d'activité antimicrobienne ont montré une forte activité pour l'huile d'*Artemisia herba alba* Asso sur toutes souches, et une activité plus modérée pour l'huile de *Rosmarinus officinalis L*. Quant aux tests d'interaction entre les huiles et les antibiotiques, deux types d'interactions sont observés lors de l'association HES/ATBs (indifférentes et synergiques), les interactions synergiques concernent les deux plantes avec la majorité des souches testées. L'utilisation des huiles essentielles en combinaison avec les antibiotiques pourrait être de ce faite une alternative à l'utilisation excessive des antibiotiques en thérapeutique pour traiter les infections à germes multirésistants.

Mots clés : Activité antibactérienne, Huiles essentielles, *Artemisia herba alba* Asso, *Rosmarinus officinalis L*, Association HES/ATBs.

Abstract

Antibiotic resistance and the recent emergence of multidrug-resistant bacteria represent a permanent danger to public health because of their rapid spread and the difficulty that doctors have in the treatment of the infection caused by these bacteria. The goal of this study is to evaluate the antibacterial activity of essential oils from two local aromatic plants (*Artemisia herba alba* Asso and *Rosmarinus officinalis L*) and their associations with different family of antibiotics against six reference microbial strains (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *Bacillus cereus* ATCC 11778 and *Aspergillus niger* 2CA936) and a clinical strain *Candida albicans*. The aromatogram (disks methods) was used to evaluate the activity of these essential oils, as well as the essential oil/antibiotic associations. The antimicrobial activity results showed strong activity for *Artemisia herba alba* Asso oil on all strains, and more moderate activity for *Rosmarinus officinalis L* oil. Meanwhile the interaction tests between oils and antibiotics, two types of interactions were observed during the HES/ATBs association (indifferent and synergistic), the synergistic interactions concern the two plants with the majority of the strains tested. The use of essential oils in combination with antibiotics could therefore be an alternative to the excessive use of antibiotics in therapy to treat multidrug-resistant germ infections.

Keywords: Antibacterial activity, Essential oils, *Artemisia herba alba* Asso, *Rosmarinus officinalis L*, Association HES/ATBs.

