

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrou University- Khenchela-
Natural and life sciences Faculty
Molecular and Cellular Biology Department



N° de série :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES **DE MASTER ACADEMIQUE**

Domaine : **Sciences de la nature et de la vie**

Filière : **Sciences Agronomie**

Spécialité : **Production Végétale**

Présenté par :

Aymen CHEKHAB

Chahinez HOGGAS

Thème

**Étude de l'activité antibactérienne des extraits d'huile de
(*Rosmarinus officinalis*) et (*Lavandula coronopifolia*) dans la
région de Bouhmama wilaya de Khenchela**

Mémoire soutenu publiquement le/...../ 20..... Devant le jury composé de :

M. BOUZOU Mourad

MCB, Univ Abbès Laghrou -Khenchela. Président

Mme. MAMEN Nassima

MCB, Univ Abbès Laghrou -Khenchela. Encadreur

Mme. MAZHOUD Amel

MAA, Univ Abbès Laghrou -Khenchela., Examineur

Année Universitaire 2024/2025

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu, le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail. La première personne que nous tenons à remercier est notre

Encadrant, Pr. Maman Nassima, pour l'orientation, la confiance, la patience et ses bonnes explications, qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions. Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui, par leurs compétences, nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

À mes chers parents, quoi que je dise ou fasse,

Je ne pourrai jamais vous exprimer ma gratitude. Votre compassion me comble, votre gentillesse me guide et votre présence à mes côtés a toujours été ma force face aux difficultés.

À mes chers frères et sœurs, que Dieu les protège et leur inspire réussite et bonheur.

À mes chers amis, en particulier mon amie et ma sœur Sihem Laghrour, pour leur aide et leur soutien dans les moments difficiles.

Résumé

Résumé

L'objectif de notre travail est basé sur la mise en évidence les plants de romarin et de lavande dans la province de Khenchela et la région de Bouhamama en évaluant leur activité antibactérienne et leur efficacité. Les résultats de l'étude d'activité antibactérienne ont montré que l'huile essentielle de romarin est très efficace pour réduire la croissance bactérienne. Nous avons constaté que les bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus* sont très sensibles à cette huile (20 mm, 18 mm, 15 mm). Les résultats ont également montré que l'huile essentielle de lavande est également efficace pour réduire la croissance bactérienne. Nous avons constaté que les bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus* sont sensibles à cette huile (15 mm, 11 mm, 2 mm). En revanche, les résultats du mélange d'huiles essentielles de romarin et de lavande ont montré une très grande efficacité pour réduire la croissance bactérienne. Cependant, nous avons constaté qu '*E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* étaient très sensibles à ce mélange (21,5 mm, 20 mm et 19 mm). L'étude a également montré que ces trois types de bactéries étaient très résistants à l'extrait méthanolique de romarin, à l'extrait méthanolique de lavande et à leur combinaison.

MOTS Clés : Romarin, huile essentielle, la Lavande, antibactérien

Abstract

Abstract

Our work focuses on highlighting rosemary and lavender plants in Khenchela Province and the Bouhamama region, and evaluating their antibacterial activity and efficacy. The results of the antibacterial activity study showed that rosemary essential oil is highly effective in reducing bacterial growth. We found that *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* were highly sensitive to this oil (20 mm, 18 mm, 15 mm). The results also showed that lavender essential oil is also effective in reducing bacterial growth. We found that *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* were sensitive to this oil (15 mm, 11 mm, 2 mm). In contrast, the results of the rosemary and lavender essential oil blend showed a very high efficacy in reducing bacterial growth. However, we found that *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus* were highly susceptible to this blend (21.5 mm, 20 mm, and 19 mm). The study also showed that all three types of bacteria were highly resistant to methanolic rosemary extract, methanolic lavender extract, and their combination.

Keywords: Rosemary, lavender, essential oil, antibacterial

ملخص

يركز عملنا على تسليط الضوء على نباتات إكليل الجبل والخزامى في ولاية خنشلة ومنطقة بوحمامة، وتقييم نشاطها المضاد للبكتيريا وفعاليتها. أظهرت نتائج دراسة النشاط المضاد للبكتيريا أن زيت إكليل الجبل العطري فعال للغاية في الحد من نمو البكتيريا. ووجدنا أن بكتيريا الإشريكية القولونية، والمكورات العنقودية الذهبية، و العصيات ، كانت شديدة الحساسية لهذا الزيت (20 مم، 18 مم، 15 مم). كما أظهرت النتائج أن زيت الخزامى العطري فعال أيضًا في الحد من نمو البكتيريا. ووجدنا أن بكتيريا الإشريكية القولونية، والمكورات العنقودية الذهبية، والعصويات كانت حساسة لهذا الزيت (15 مم، 11 مم، 2 مم). في المقابل أظهرت نتائج مزيج زيتي إكليل الجبل والخزامى العطريين ، فعالية عالية جدًا في الحد من نمو البكتيريا، إلا أننا وجدنا أن بكتيريا الإشريكية القولونية، والمكورات العنقودية الذهبية، والعصيات ، كانت شديدة التأثير بهذا المزيج (21.5 مم، 20 مم، 19 مم). كما أظهرت الدراسة أن جميع أنواع البكتيريا الثلاثة كانت شديدة المقاومة لمستخلص إكليل الجبل الميثانولي، ومستخلص الخزامى الميثانولي، ومزيجهما.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل، الخزامى، زيت عطري، ضد بكتيريا.

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1. Carte de situation géographique de la wilaya de khenchela	4
Figure 2. Géolocalisation de la carte de la région bouhmama sur la carte khenchela.....	5
Figure 3. Plante de romarin pendant la récolte et le séchage.	7
Figure 4. Le romarin après le broyage.	7
Figure 5. Plante de Lavandula pendant le séchage après la récolte.....	8
Figure 6. Lavandula après le broyage.....	9
Figure 7. Photographie de Rot vapeur.....	9
Figure 8. L'extraction d'huile essentielle.	10
Figure 9. Préparation des souches bactérienne.....	13
Figure 10. Solution de MH.....	13
Figure 11. Distribution et solidification le MH.....	14
Figure 12. Ensemencement et test antibactérienne.....	15
Figure 13. Photographie de tests pour les souches de <i>Staphylococcus</i> , <i>E. coli</i> et <i>Bacillus</i> après un test avec de l'huile de romarin.	18
Figure 14. Photographie de tests pour les souches de <i>Staphylococcus</i> , <i>E. coli</i> et <i>Bacillus</i> après un test avec de l'huile de la lavande.....	19
Figure 15. Photographie de tests pour les souches de <i>Staphylococcus</i> , <i>E. coli</i> et <i>Bacillus</i> après un test avec de l'huile mélange (romarin +la lavande)	19
Figure 16. Histogramme de moyenne des zones inhibition des souches sélectionnée (test huile romarin)	23
Figure 17. Histogramme de moyenne des zones inhibition des souches sélectionnée (t'est huile la lavande).....	24
Figure 18. Histogramme de moyenne des zones inhibition des souches sélectionnée (test huile mélange)	24

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1. Classification les souches bactériennes.....	12
Tableau 2. Rendement de l'extrait méthanolique.....	17
Tableau 3. Rendement de l'extrait méthanolique.....	17
Tableau 4. Rendement de l'extraction de l'huile essentielle de romarin.	18
Tableau 5. Rendement de l'extraction de l'huile essentielle de la lavande.....	18
Tableau 6. Moyenne des zones d'inhibition de <i>staphylococcus</i> (huile romarin).....	19
Tableau 7. Moyenne des zones d'inhibition de <i>E.coli</i> (huile romarin)	20
Tableau 8. Moyenne des zones d'inhibition de <i>Bacillus</i> (huile romarin).....	20
Tableau 9. Moyenne des zones d'inhibition de <i>staphylococcus</i> (huile la lavande).....	21
Tableau 10. Moyenne des zones d'inhibition de <i>E.coli</i> (huile la lavande).....	21
Tableau 11. Moyenne des zones d'inhibition de <i>Bacillus</i> (huile la lavande).....	21
Tableau 12. Moyenne des zones d'inhibition de <i>staphylococcus</i> (huile mélange)	22
Tableau 13. Moyenne des zones d'inhibition de <i>E. coli</i> (huile mélange)	22
Tableau 14. Moyenne des zones d'inhibition de <i>Bacillus</i> (huile mélange).....	22

Liste des abréviations

Liste des abréviations

- C ° : Degré Celsius.
- CH₃OH : Méthanol.
- CM : centimètre
- EMR : Extrait méthanolique romarin.
- EMV : Extrait méthanolique la Lavande
- G : Gramme.
- GN : Géluse.
- H : heure.
- HE : Huile essentielle.
- L : Litre.
- MG : milligramme.
- MIN : Minute.
- ML millimètre.
- N : Normalité.
- P/V : poid / volume.
- UG : Microgramme.
- UL : Microlitre.

Table des matières

Table des matières

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

I. Introduction Générale..... 1

Matériel et méthodes

II.1.1. Présentation de site expérimentale 5

II.1.2. Matériel végétale 5

II.1.2.1. Description botanique de romarin 5

II.1.2.1.2 La récolte de romarin et la lavande 6

II.1.2.2 Description botanique de la Lavandes 7

II.1.3. Préparation de l'extrait méthanolique 9

II.1.4. Etude antibactérienne 10

II.1.4.1. Préparation d'extrait de l'huile essentielle de romarin et la Lavandula 10

II.1.4.2. Test antibactérienne 11

II.1.4.2.1. Préparations de gélose (GN) 12

II.1.4.2.1.1 Mélange initial 12

II.1.4.2.1.2 Solidification 12

II.1.4.2.1.3 Préparation des souches bactériennes 12

II.1.4.2.1.4 Préparation du milieu de MH 13

II.1.4.2.1.5. Distribution et solidification 13

II.1.4.2.1.6. Préparation des échantillons 14

II.1.4.2.1.7. Préparation des dilutions 14

Table des matières

II.1.4.2.1.8. Ensemencement et test antibactérienne	14
II.1.4.2.1.9. Lecture des résultats	15

Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'extrait méthanolique	17
III.1.1. Extrait méthanolique du Romarin	17
III.1.2. Extrait méthanolique de la Lavande.....	17
III.2. Résultats d'étude antibactérien	17
III.2.1. Résultats de l'extrait de l'huile essentielle de romarin	17
III.3. Résultats des tests antibactériennes	18
III.3.1. Les résultats des tests bactériens sur l'huile de romarin	19
III.3.2. Les résultats des tests bactériens sur l'huile de la lavande	21
III.3.3. Les résultats des tests bactériens sur mélange l'huile romarin et la lavande	22
III.4. Analyse comparative des résultats :	25
Conclusion générale	27
Références bibliographiques.....	29
Annexes	32

Introduction

Introduction

I. Introduction Générale

Depuis les premiers temps de l'humanité, les plantes aromatiques et médicinales ont occupé une place prépondérante dans les pratiques de soin, en raison de leurs multiples vertus thérapeutiques. La phytothérapie, issue de la médecine traditionnelle, se base sur l'utilisation des plantes pour soigner divers maux et favoriser le bien-être. Cependant, l'approfondissement scientifique de leurs propriétés et l'exploration de leurs métabolites secondaires permettent de comprendre avec plus de précision leur efficacité et leurs éventuels effets indésirables. et les choses non vivantes qu'ils peuvent subir, leurs métabolites secondaires ont des propriétés différentes. Biologique (Hadoushi *et al.*, 2009) ce qui explique son utilisation généralisée dans la fabrication pharmaceutique. Elle intervient également dans la protection des plantes contre les attaques microbiennes pouvant entraîner des pertes importantes de plantes (Bruneiton, 1999). Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de traitements. Traditionnel et efficace grâce aux principes actifs qu'il contient. Ces matériaux et substances biologiquement actives, synthétisées à partir de métabolites secondaires de plantes médicinales, stimulent

L'intérêt des chimistes, des biologistes et des médecins est croissant. Ils font partie de la Pharmacie Verte Grâce à ses propriétés biologiques prouvées : antimicrobienne, antibactérienne, Antioxydant, analgésique, anti-inflammatoire, anticancéreux, antiparasitaire, insecticide (Shaib, 2021).

En Algérie la flore médicinale naturelle est relativement abondante et compte plus de 3000 espèces utilisées en médecine traditionnelle (ABED, 1997). Avec ses espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% sont endémiques, la flore reste peu exploitée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique (BOUZID *et al.*, 2017).

Dans notre étude, nous nous sommes concentrés sur deux plantes : la lavande (*Lavandula coronopifolia*) et le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.).

Le romarin est une plante médicinale originaire de la région méditerranéenne et pousse naturellement dans le sud de l'Europe. Il est cultivé dans le monde entier à partir de graines ou de boutures au printemps. Pousse bien dans les climats chauds et assez secs.

Le romarin est répandu dans le monde entier, dans la région méditerranéenne et dans le reste de l'Europe, d'où son nom de « rose de la mer ». 'Rosea', 'marinus' (Genochet, 1973), est une espèce méditerranéenne et n'est pas présente à l'état sauvage en Belgique (Angeno *et al.*,

Introduction

1981). D'après (PERROT et PARIS, 1971), cette plante se rencontre également en Corse, au Portugal et en France, et pousse abondamment dans les sols calcaires.

Le romarin pousse à l'état sauvage ainsi que dans les fermes. C'est la plante la plus populaire du bassin méditerranéen algérien. Les fleurs fleurissent tout au long de l'année, attirant de nombreux insectes (Emberger, 1960).

La lavande est une plante de montagne originaire d'Afrique du Nord et des régions montagneuses de la Méditerranée, mais elle est aujourd'hui cultivée partout dans le monde, notamment aux États-Unis, en Australie et dans le sud de l'Europe.

Ses fleurs séchées sont récoltées peu avant leur ouverture complète, et l'huile essentielle de lavande est produite par distillation par évaporation de ces fleurs et des feuilles de la plante de lavande. La lavande contient des principes actifs dont 1% à 3% d'huile essentielle contenant 20% à 50% de linalol, 30% à 40% d'acétate de linalyle, des hydroxycoumarines, des tanins, de l'acide coffeique et ses dérivés.

L'extraction de l'huile essentielle est nécessairement un processus complexe et délicat. Il vise à capturer et collecter les produits les plus volatils, délicats et fragiles produits par les plantes, sans en altérer la qualité.

D'un point de vue général, il est intéressant de noter que les huiles essentielles ne sont pas nécessairement identiques à celles produites par les plantes. Bien que l'idée selon laquelle les huiles essentielles peuvent être en harmonie avec l'esprit d'une plante, et donc être une réplique exacte de ce qu'elle contient, puisse paraître poétique, elle reste fausse, du moins dans la plupart des cas. Les huiles essentielles subissent généralement des changements dans leur composition chimique au cours du processus d'extraction en raison de la chaleur ou des interactions avec l'eau. En effet, seules les huiles essentielles produites par pression à froid, qui n'ont pas été en contact avec le jus du fruit et sont protégées de l'oxydation, peuvent égaler la véritable essence de la plante (Kaloustian et Hadj-Menaglo, 2012).

Notre étude est basée sur l'efficacité et l'impact du romarin et de la lavande sur l'activité anti bactérienne.

Le travail comprend un aspect appliqué, où une étude est menée pour étudier l'activité contre les bactéries.

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1 Présentation de la zone étude

La région de KHENCHELA se trouve au nord-est de l'Algérie au pied de la chaîne montagneuse des autres entre $34^{\circ}12'36''$ et $35^{\circ}41'21''$ de latitude nord et $06^{\circ}34'12''$ et $07^{\circ}35'56''$ de longitude est, sa superficie estimée à 9715,6 km² (Khabtane, 2010). La composition physique de la wilaya présente une grande diversité (Dali et al, 2021). Elle se situe entre la chaîne steppique et les hauts plateaux, ce qui lui confère une nature forestière agro-pastorale et saharienne. La région de khenchela se caractérise par trois climats :

- Un climat très rude en hiver, modéré en été dans la région montagneuse centrale.
- Un climat modéré en hiver, chaude et sec en été dans les steppes.
- Un climat très froid en hiver, sec en été dans les hautes steppes au nord chaud et arides (Draoui et Hamadi, 2017).

La plupart des sols de la wilaya sont pauvres et peu profonds, à l'exception des plaines du nord où ils sont plutôt plus profonds

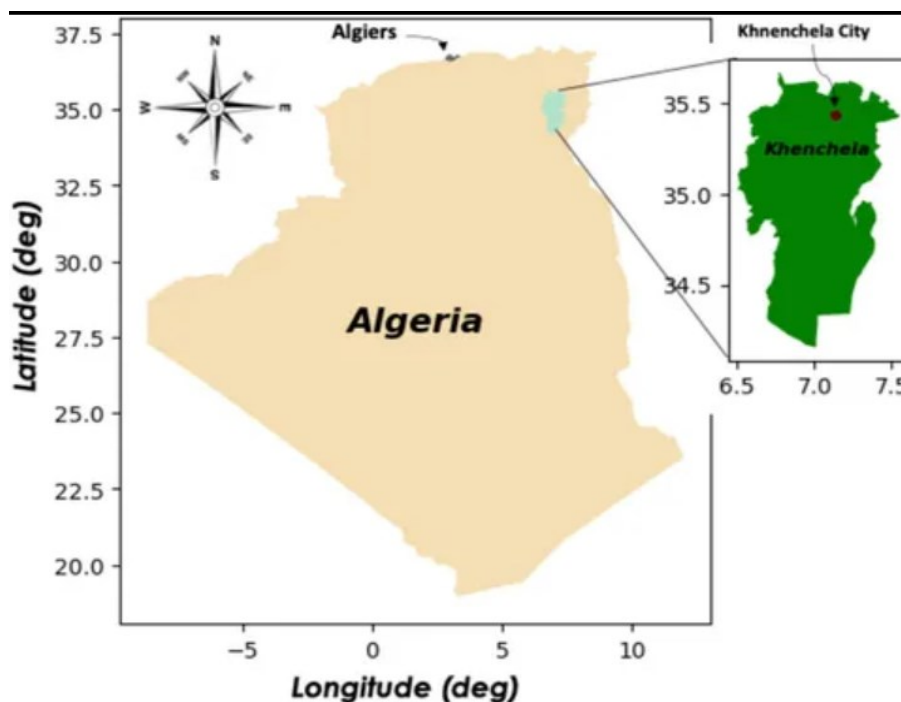


Figure 1. Carte de situation géographique de la wilaya de khenchela

(Source PA.D.Dde la wilaya de kheenchela, 2009)

II.1.1. Présentation de site expérimentale

Bouhamama est située dans une région aride caractérisée par un climat semi-aride, avec des étés chauds et secs et des hivers rigoureux, froids et pluvieux. Informations complémentaires : Selon la classification climatique de Köppen, sa superficie est de 412 km² et sa population est de 6 150 habitants, avec une densité de population de 14,9 habitants par kilomètre carré.

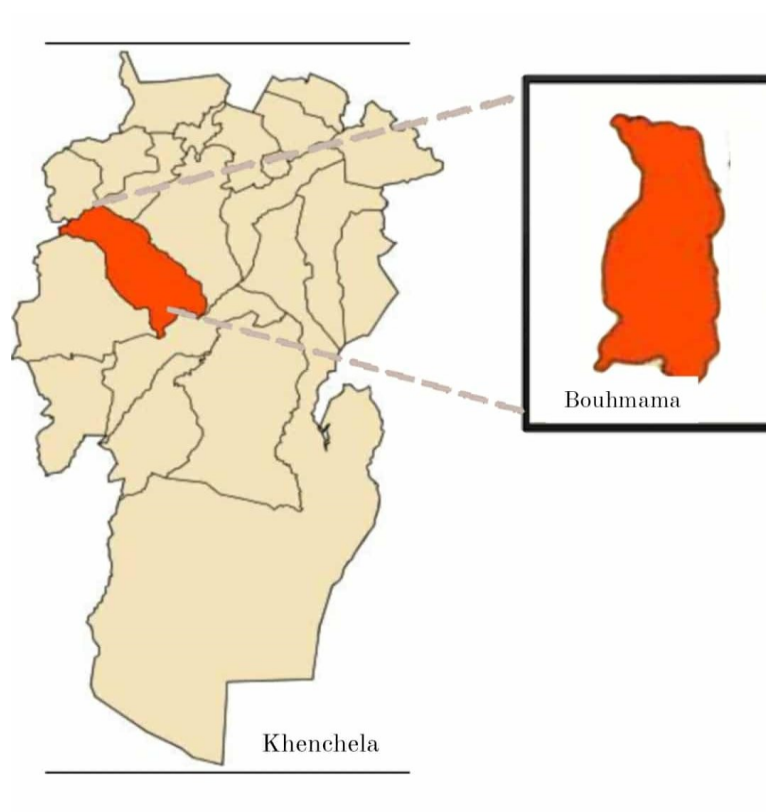


Figure 2. Géolocalisation de la carte de la région bouhmama sur la carte khenchela

II.1.2. Matériel végétale

II.1.2.1 le romarin

II.1.2.1. Description botanique de romarin

Rosmarinus officinalis appartient à la famille botanique des Lamiacées au sein du genre *Rosmarinus*. C'est un arbrisseau toujours vert de 0,5 à 2 m. La tige ligneuse est couverte d'une écorce grisâtre et se divisent

a- Feuille

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, faibles et coriaces, les fleurs d'un bleu pale, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (gonzalez-trujano *et al.*, 2007 ; AtikBekkara *et al.*, 2007).

b- Fleure

Les fleurs sont des pentamères, en général Hermaphrodites. Le calice est plus ou moins bilabié persistant et la corolle bilabiée, longuement tubuleuse, parfois à 4 -5 lobes subégaux ou à une seule lèvre inférieure trilobée, la supérieure est bilobée. L'androcée est formé de 4 étamines, la cinquième étant très réduite, parfois 2 étamines et 2 staminodes. Le Gynécée forme 2 carpelles biovulés subdivisés chacun par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées (Madadori ,1982). Le style bifide gymno basique est le fruit constitué par 3 akènes plus ou moins soudées par leur face interne.

c- Racine

C'est la partie souterraine de la plante, spécialisée dans l'absorption de l'eau et des sels minéraux et dans la fixation au sol, la racine du *Rosmarinus officinalis* est profonde et pivotante.

d- Tige

Arbuste ou sous arbrisseau, rameau de 0.5 à 2 mètres cette tige est tortueuse, anguleuse fragile. L'écorce est linéaire à cyme axillaire plus ou moins simulant des épis (Sanon, 1992).

e- Fruit

Esttétrakène de forme ovale située au fond du calice. Peut être sous forme de baie, sèche et lisse.

II.1.2.1.2 La récolte de romarin et la lavande

En mai 2025, les parties aériennes des plantes de romarin et de la lavande ont été récoltées dans la région de Bouhamama de la province de Khenchela. Après la récolte, les parties de la plante sont lavées avec de l'eau traitée pour les préserver et éliminer la poussière et autres particules. La plante est ensuite séchée à l'ombre dans un environnement sec et bien ventilé pendant 11 jours. La partie récoltée de la plante est ensuite coupée en petits morceaux. Pour favoriser son séchage rapide.



Figure 3. Plante de romarin pendant la récolte et le séchage.

Après le séchage d'échantillon on le broie dans un robot jusqu'à l'obtention d'une poudre de romarin.



Figure 4. Le romarin après le broyage.

II.1.2.2 Description botanique de la Lavandes

Les Lavandes sont issues de la famille des Lamiaceae comprenant des plantes dicotylédonées herbacées à semi-ligneuses de 7534 espèces pour 236 genres (**Despinasse, 2015**) et le genre Lavande fait partie de l'une des familles Lamiaceae. Les espèces de *Lavandula* sont un peu plus largement répandues dans le pourtour méditerranéen et cultivées en France, en Italie et en Espagne (**Silva et al., 2015**).

Matériel et méthodes

a- Port et taille : Arbrisseau buissonnant, généralement de 30 à 60 cm de hauteur, pouvant atteindre 1 m.

b- Feuillage : Feuilles linéaires, opposées et persistantes, de couleur vert-gris à argenté.

c- Fleurs : Petites fleurs tubulaires, disposées en épis au sommet des tiges, de couleur bleue ou violette, très parfumées.

d- Fruits : Petits akènes allongés, marron foncé.

e- Tiges : Branches fines et ligneuses.

f- Racines : Système racinaire généralement peu profond.

G- Floraison : En été, de juin à août.

Lavandula angustifolia est le seul représentant du genre *Lavandula* est reconnu comme une plante médicinale et utilisé en phytothérapie moderne (Blažeković *et al.*, 2010).



Figure 5. Plante de *Lavandula* pendant le séchage après la récolte

Après le séchage d'échantillon on le broie dans un robot jusqu'à l'obtention d'une poudre de *Lavandula*.



Figure 6. Lavandula après le broyage.

II.1.3.Préparation de l'extrait méthanolique

Dans un bécher on ajoute 50 g de la poudre sèche avec 200 ml de solution méthanolique (150 ml de CH_3OH + 50 ml l'eau distillée), après le bécher entier a été recouvert et on place sur l'agitateur pendant 24 h. Ce protocole pour obtenir 3 extraits méthanolique à partir des 3 quantités de poudres (3 macérations), puis on filtre les mélanges et on évaporé à basse température 40°C avec un rot à vapeur.



Figure 7. Photographie de Rot vapeur.

Calcule le rendement

La formule suivante permet de calculer le rendement en pourcentage.

$$R = 100 m / m_0$$

R : le rendement en %.

m : la masse de l'extrait.

m₀ : la masse initiale de la plante

II.1.4. Etude antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante consiste à estimer l'inhibition de la croissance des bactéries testées. Cette activité est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélose basée à l'utilisation de disques stériles (**Cavallo *et al.*, 2006**).

II.1.4.1. Préparation d'extrait de l'huile essentielle de romarin et la Lavandula

Toutes les fois, on mélange 50 g de la matière sèche avec 1 litre d'eau et on les place dans un ballon de deux litres. Tout cela est chauffé à ébullition pendant 3 h. Les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant un réfrigérant de 40 cm se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, après récupérées dans de petits flacons (**Caillet et Lacroix, 2007**).



Figure 8. L'extraction d'huile essentielle.

II.1.4.2. Test antibactérienne

Les souches bactériennes sélectionnées :

a - Escherichia coli à gramme négatif ATCC25922.

Escherichia coli strain Seattle 1946 is a whole-genome sequenced quality control strain that does not produce verotoxin. This organism is a CLSI control strain for antimicrobial susceptibility testing. It is used for media testing, as a negative control for LT toxin production, and as a quality control strain for Abbott, API, Autobac, BBL, bioMerieux VITEK, Biosynth, Difco, IDS, Micro-Media, MicroScan, Roche Diagnostics, and Sensititre products. Used in susceptibility disc testing of neomycin, colistin (colimycin), kanamycin, cephalixin, gentamicins, cefamandole, cephalothin, tetracycline, cephaloglycin, cephaloridine [cephalomycin], nalidixic acid, and chloramphenicol.

b - Bacillus subtilis gramme positif

Bacille à Gram positif (famille des Bacillaceae), ubiquitaire, fréquente dans les sols.

Il s'agit d'une bactérie mobile, aérobic stricte, catalase positive, capable de former des spores très résistantes dans l'environnement. Elle peut, d'autre part, constituer des biofilms. *B. subtilis* est considéré comme dépourvu de pathogénicité pour l'Homme, hormis d'exceptionnelles intoxications alimentaires. Il est parfois utilisé pour faciliter la reconstitution du microbiote intestinal.

B. subtilis, dont le génome a été complètement séquencé, est, par ailleurs, une bactérie utilisée au laboratoire pour étudier certaines voies métaboliques, la différenciation cellulaire et la régulation génétique. Enfin, il constitue une source d'enzymes pour l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique

c - Staphylococcus aureus à gramme positif ATCC2593.

Les staphylocoques sont des cocci à gram positif qui tendent à se grouper en amas (Nauciel,2000) irrégulier à la façon d'une grappe de raisin. *Staphylococcus aureus* est un germe aérobic - anaérobic facultatif (avril *et al.*, 2000).

C'est l'espèce dominante de la flore aérobic du tube digestif. *Escherichia coli* est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Nauciel, 2000).μμ

Matériel et méthodes

Tableau 1. Classification les souches bactériennes.

Classification	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Règne	Bacteria	Non défini pour embranchement	Bactéries
Classe	Bacilli	Gammaproteobacteria	Bacilli
Ordre	Bacillales	Ebterobacterales	Bacillales
Famille	Microccaceae	Enterobacteriaceae	Bacillaceae
Genre	Staphylococcus	Esherichia	Bacillus

II.1.4.2.1. Préparations de gélose (GN)

II.1.4.2.1.1 Mélange initial

On met 14 g de gélose dans un 500ml d'eau distillée, après agiter sur agitateurs à chaud jusqu'à change de couleur jaune foncé.

Sterilisation et distribution :

On verse la gélose dans un flacon stérile bien close. Puis chauffer la solution au bain-marie.

Sortir la gélose du bain-marie et laisse refroidir, après distribuer la gélose dans 3 boîtes de pétri stériles plus proches d'un bec bunsen.

II.1.4.2.1.2 Solidification

On laisse la gélose bien solidifier pendant 10 min

II.1.4.2.1.3 Préparation des souches bactériennes

Prélever un échantillon de chaque bactérie avec une boucle de platine stérile. Puis inoculer les trois boîtes de pétri par déploiement sur la gélose. Après Clos les boîtes et incubé à 37c°pendant 24 h.

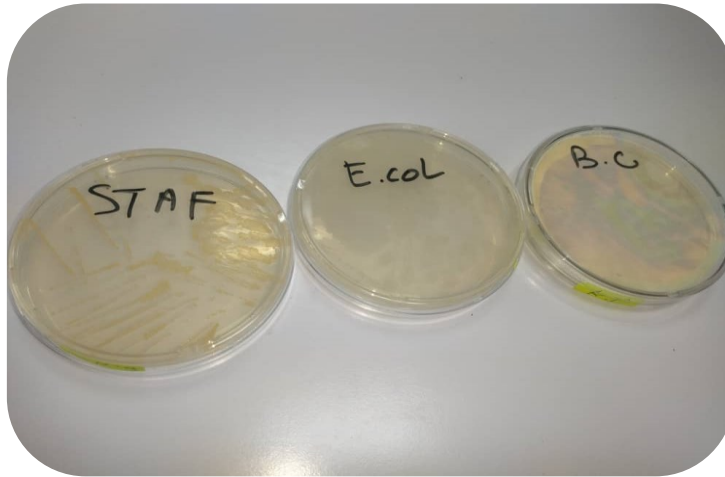


Figure 9. Préparation des souches bactérienne

II.1.4.2.1.4 Préparation du milieu de MH

Préparer 40g de MH avec 1 litre d'eau distillée dans trois boîtes de pétri. Ensuite agiter et chauffer jusqu'à ébullition pour dissoudre.

Incuber dans un bain-marie.

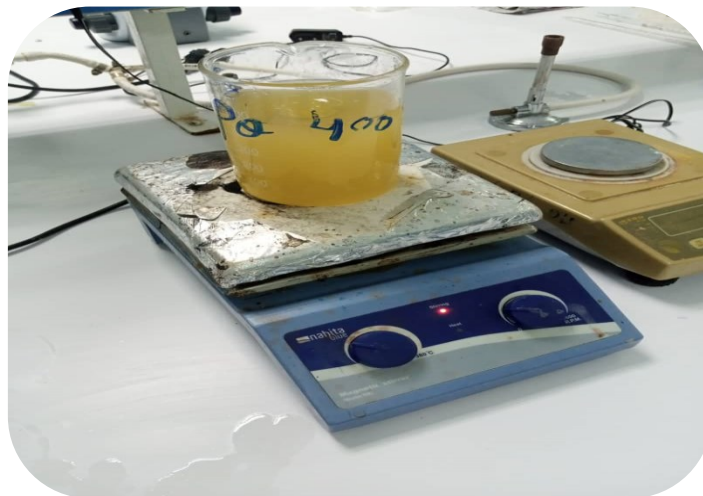


Figure 10. Solution de MH.

II.1.4.2.1.5. Distribution et solidification

Verser le MH dans trois boîtes de pétri stériles et laisser solidifier quelques minutes.

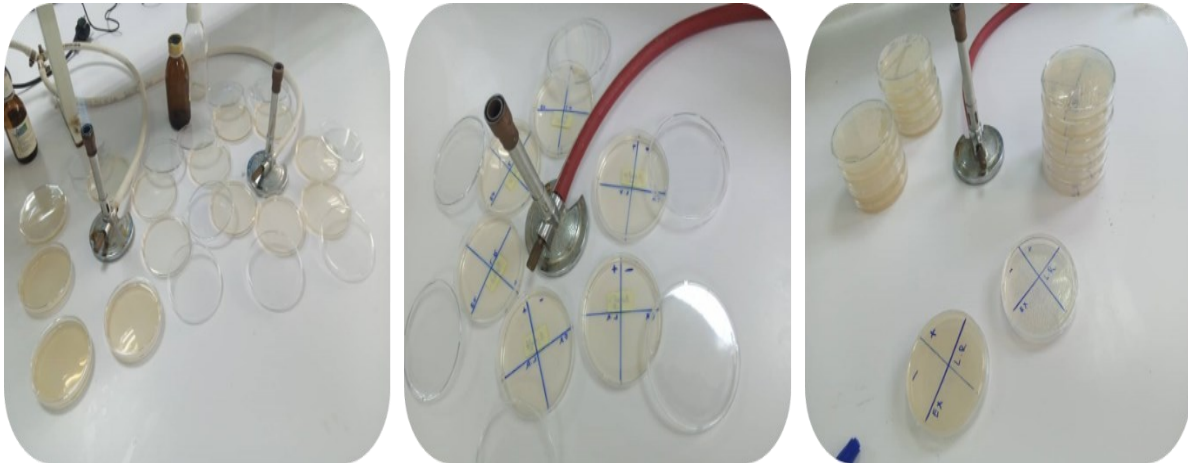


Figure 11. Distribution et solidification le MH.

II.1.4.2.1.6. Préparation des échantillons

Préparation des tubes de sérum physiologique

On prépare trois tubes de 10 ml de sérum physiologique, puis stériliser les tubes dans un autoclave à 120 C° pendant 20 min.

II.1.4.2.1.7. Préparation des dilutions

Prélever un échantillon de chaque bactérie par écouvillon stérile. Ensuite transférer dans le premier tube de sérum physiologique et mélanger bien, puis égoutter légèrement l'écouvillon sur le côté du tube.

Répéter le processus pour les deux autres tubes.

II.1.4.2.1.8. Ensemencement et test antibactérienne

Diviser chaque boîte en quatre sections à l'aide d'un marqueur :

- **Zone négative** : eau distillée.
- **Zone positive** : antibiotique oxacilline.
- Zone pour : extrait méthanoïque.
- Zone pour HE.

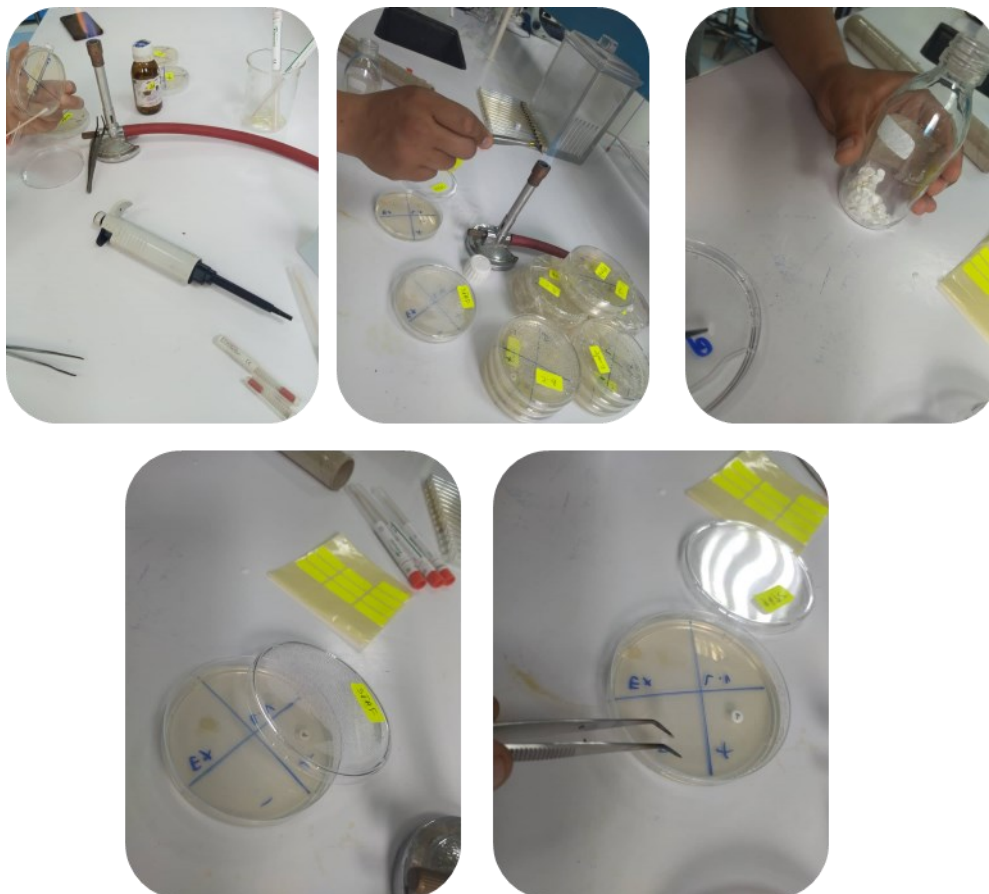


Figure 12. Ensemencement et test antibactérienne.

a) Application des disques :

On place des disques stériles de 6 mm de diamètre sur chaque section de 6 mm de diamètre sur chaque section de la boîte, Puis ajouter respectivement l'eau distillée, l'antibiotique oxacilline, l'extrait méthanolique et huile essentielle sur les disques appropriés, puis laisser sécher.

b) Incubation :

Fermer les boîtes de pétri avec des para film. Puis incuber à 37C° pendant 24 h.

II.1.4.2.1.9. Lecture des résultats

A) Analyse des zones d'inhibition :

Mesurer les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque, après comparer l'efficacité antibactérienne de chaque traitement.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'extrait méthanolique

III.1.1. Extrait méthanolique du Romarin

L'extraction de 50g de la poudre de romarin avec du méthanol a donné un extrait méthanolique avec un rendement indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 2. Rendement de l'extrait méthanolique.

La quantité d'extrait à partir de 150g	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Rendement (g)	11.52
Rendement %	9.68 %

A partir de 150g de la plante romarin l'extraction méthanolique a donné 9.68 %. Alors la différence entre le rendement en g et le rendement en % est donc de 1.18mg.

III.1.2. Extrait méthanolique de la Lavande

L'extraction de 50g de la poudre de la lavande avec du méthanol a donné un extrait méthanolique avec un rendement indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 3. Rendement de l'extrait méthanolique.

La quantité d'extrait à partir de 150g	La lavande
Rendement (g)	11.70
Rendement %	10.13 %

A partir de 150g de la plante la lavande l'extraction méthanolique a donné 10.13%. Alors la différence entre le rendement en g et le rendement en % est donc de 1.23mg.

III.2. Résultats d'étude antibactérien

III.2.1. Résultats de l'extrait de l'huile essentielle de romarin

1-L'huile essentielle a été extraite du romarin par hydro distillateur de type Clevenger. Nous avons obtenu une huile de couleur jaune avec une odeur agréable et fraîche (**Laiche et Mecheri, 2023**). Le rendement de l'extraction est indiqué dans le tableau suivant :

Résultats et discussion

Tableau 4. Rendement de l'extraction de l'huile essentielle de romarin.

La quantité d'extrait à partir de 3 kg	Extrait de l'huile essentielle de romarin
Rendement en %	2.12 %
Rendement en ml	11.66 ml

III.2.2. Résultats de l'extrait de l'huile essentielle de la Lavande

L'huile essentielle a été extraite du la lavande par hydro distillateur de type Clevenger. Nous avons obtenu une huile de couleur jaune avec une odeur agréable et fraîche (**Laiche et Mecheri, 2023**). Le rendement de l'extraction indique dans le tableau suivant :

Tableau 5. Rendement de l'extraction de l'huile essentielle de la lavande.

La quantité d'extrait à partir de 3 kg	Extrait de l'huile essentielle de la lavande
Rendement en %	2%
Rendement en ml	13 ml

III.3. Résultats des tests antibactériennes

Dans notre étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique, de l'huile essentielle de Romarin , l'huile essentielle de Lavande et le mélange des huiles (Romarin + la Lavande) , les résultats obtenus sont les suivants :



Figure 13. Photographie de tests pour les souches de *Staphylococcus*, *E. coli* et *Bacillus* après un test avec de l'huile de romarin.



Figure 14. Photographie de tests pour les souches de *Staphylococcus*, *E. coli* et *Bacillus* après un test avec de l'huile de la lavande

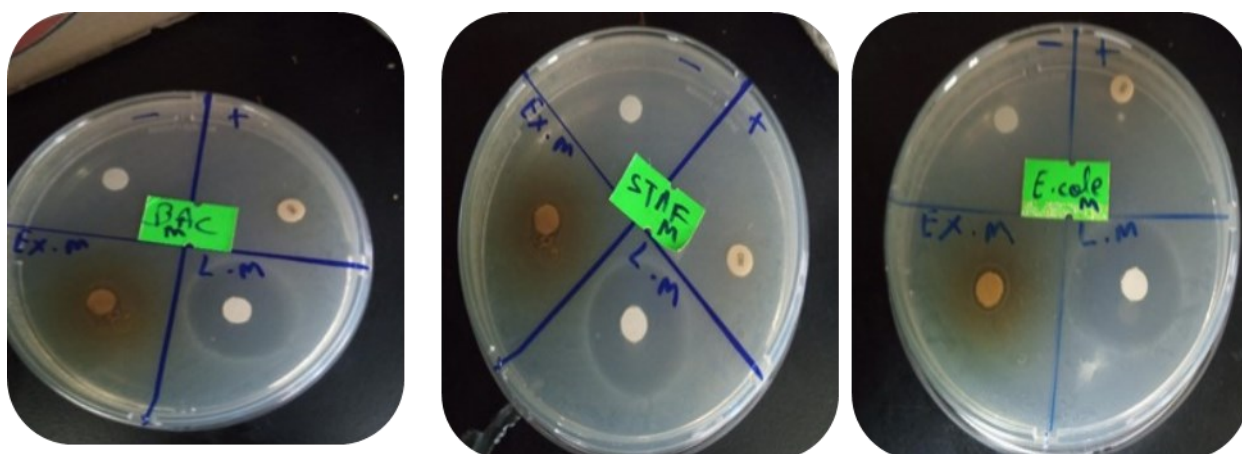


Figure 15. Photographie de tests pour les souches de *Staphylococcus*, *E. coli* et *Bacillus* après un test avec de l'huile mélange (romarin + la lavande)

III.3.1. Les résultats des tests bactériens sur l'huile de romarin

Tableau 6. Moyenne des zones d'inhibition de *staphylococcus* (huile romarin)

Les zones d'inhibition	Sensibilité	Diamètre mm
Eau distillé	Nule	0 mm
Extrait méthanolique (romarin)	Sensible	10 mm
Huile essentielle (romarin)	Très sensible	18 mm
Antibiotique	Très sensible	15 mm

Résultats et discussion

Tableau 7. Moyenne des zones d'inhibition de *E.coli* (huile romarin)

Les zones d'inhibition	Sensibilité	Diamètre mm
Eau distillé	Nule	0 mm
Extrait méthanolique (romarin)	Sensible	12 mm
Huile essentielle (romari	Extrêmement sensible	20 mm
Antibiotique	Très sensible	15 mm

Tableau 8. Moyenne des zones d'inhibition de *Bacillus* (huile romarin)

Les zones d'nhibition	Sensibilité	Diamètre mm
Eau distillée	Nule	0 mm
Extrait méthanoluque (romarin)	Nule	0 mm
Huile essentielle (romarin)	Très sensible	15 mm
Antibiotique	Sensible	4 mm

Les résultats des tests bactériens sur l'huile de romarin ont montré ce qui suit :

a- antibiotique :

En ce qui concerne les résultats de la zone positive pour l'antibiotique, il s'est avéré qu'il avait un effet et une efficacité puissants contre les bactéries, car le taux de colonisation d'E. coli et de staphylocoque a atteint 15 mm, ce qui signifie qu'ils y sont très sensibles.

b- L'huile essentielle Romarin :

Quant aux résultats de la zoune pour l'huile de romarin, nous voyons qu'elle a un fort effet contre les trois types (*Escherichia coli*, *Staphylococcus* et *Bacillus*), car nous avons enregistré des taux d'inhibition similaires pour eux entre successivement [18mm, 20mm, 15mm], ce qui signifie qu'ils sont très sensibles à l'huile de Romarin.

c- extrait méthanoluque :

Quant à l'extrait méthanolique de Romarin, on constate qu'il a un effet contre les bactéries staphylocoques et *Escherichia coli*. Contrairement aux bactéries bacilles, qui ont montré une résistance complète à l'extrait méthanoluque.

Donc les bactéries ont une résistance à la zone négative, alors qu'elles ont une forte sensibilité à l'huile essentielle et antibiotique.

Ainsi, nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par (Miliani, 2012).

III.3.2. Les résultats des tests bactériens sur l'huile de la lavande

Tableau 9. Moyenne des zones d'inhibition de staphylococcus (huile la lavande)

Les zones d'inhibition	Sensibilité	Diamètre
Eau distillée	Nule	0 mm
Extrait méthanolique (la lavande)	Nule	0 mm
Huile essentielle (la lavande)	Très sensible	15 mm
Antiquités	Sensible	5 mm

Tableau 10. Moyenne des zones d'inhibition de É.coli (huile la lavande)

Les zones d'inhibition	Sensible	Diamètre
Eau distillée	Nule	0 mm
Extrait méthanolique (la lavande)	Nule	0mm
Huile essentielle (la lavande)	Sensible	11 mm
Antibiotique	Très sensible	16 mm

Tableau 11. Moyenne des zones d'inhibition de Bacillus (huile la lavande)

Les zones d'inhibition	Sensible	Diamètre
Eau distillée	Nule	0 mm
Extrait méthanolique (la lavande)	Nule	0 mm
Huile essentielle (la lavande)	Sensible	2 mm
Antibiotique	Nule	0 mm

Les résultats des tests sur l'huile de lavande sur les bactéries ont montré ce qui suit :

a- antibiotique :

En ce qui concerne les résultats de la zone positive pour l'antibiotique, il s'est avéré efficace contre les bactéries, car le taux de colonisation d'E. coli a atteint 16 mm et celui de Staphylococcus aureus a atteint 5 mm, ce qui signifie qu'ils y sont très sensibles. Bien que nous n'ayons enregistré aucun effet sur les bacilles.

b- L'huile essentielle la Lavande :

Quant aux résultats de la zone pour l'huile de lavande, nous voyons qu'elle a un fort effet contre les trois types (E. coli, staphylocoques et bacilles), car nous avons enregistré des taux d'inhibition similaires entre 11 mm et 15 mm sur E. coli et staphylocoques et un taux inférieur pour

Résultats et discussion

les bacilles à 2 mm, ce qui signifie *E. coli*, et staphylocoques sensibles à la présence d'huile de lavande. Par contre *Bacillus* est moins sensible que les deux autres bactéries.

c- extrait méthanolique :

Bien que nous ayons enregistré des résultats négatifs pour la zone d'extrait de méthanol, cela signifie que les bactéries ont une forte résistance contre l'extrait de méthanol.

III.3.3. Les résultats des tests bactériens sur mélange l'huile romarin et la lavande

Tableau 12. Moyenne des zones d'inhibition de *Staphylococcus* (huile mélange)

Les zones d'inhibition	Sensibilité	Diamètre mm
Eau distillée	Nulle	0 mm
Extrait méthanolique (mélange)	Sensible	2.5 mm
Huile essentielle (mélange)	Extrêmement sensible	21.5 mm
Antibiotique	Nulle	0 mm

Tableau 13. Moyenne des zones d'inhibition de *E. coli* (huile mélange)

Les zones d'inhibition	Sensibilité	Diamètre
Eau distillée	Nulle	0 mm
Extrait méthanolique (mélange)	Sensible	2 mm
Huile essentielle (mélange)	Extrêmement sensible	20 mm
Antibiotique	Nulle	0 mm

Tableau 14. Moyenne des zones d'inhibition de *Bacillus* (huile mélange)

Les zones d'inhibition	Sensibilité	Diamètre
Eau distillée	Nulle	0 mm
Extrait méthanolique (mélange)	Sensible	2 mm
Huile essentielle (mélange)	Très sensible	19 mm
Antibiotique	Nulle	0 mm

a- Antibiotique:

En ce qui concerne les résultats de la zone positive aux antibiotiques, nous constatons que l'antibiotique n'a aucun effet sur les bactéries et les résultats sont négatifs, peut-être en raison de la forte résistance des bactéries ou de l'inefficacité de l'antibiotique.

c- L'huile essentielle mélange (Romarin+ Lavande)

Quant aux résultats de la zone pour Les 'huile essentielle mélange (Romarin+Lavande) Nous avons constaté qu'il a un effet très fort contre les trois types (E. coli, staphylocoques et bacilles), car nous avons enregistré des taux d'inhibition proches comme suit [20 mm, 21,5 mm, 19 mm] pour E. coli, staphylocoques et bacilles, ce qui signifie qu'E. coli, les staphylocoques et les bacilles sont très sensibles à la présence du mélange d'huiles essentielles (romarin + lavande).

c- extrait méthanolique :

Nous avons enregistré des résultats négatifs pour la zone d'extrait de méthanol sur les trois types de bactéries (Escherichia coli, Staphylococcus et Bacillus), ce qui signifie que les bactéries ont une forte résistance contre l'extrait de méthanol.

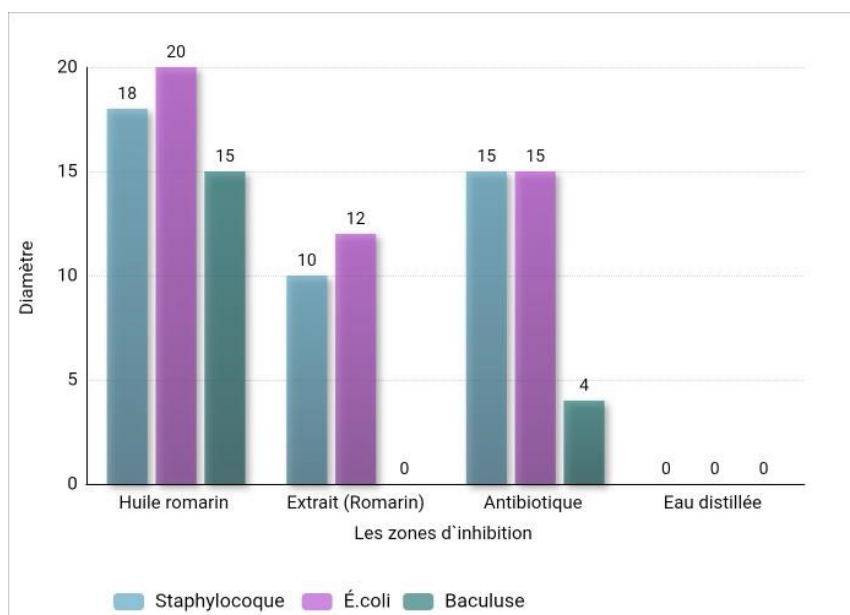


Figure 16. Histogramme de moyenne des zones inhibition des souches sélectionnée (test huile romarin)

Résultats et discussion

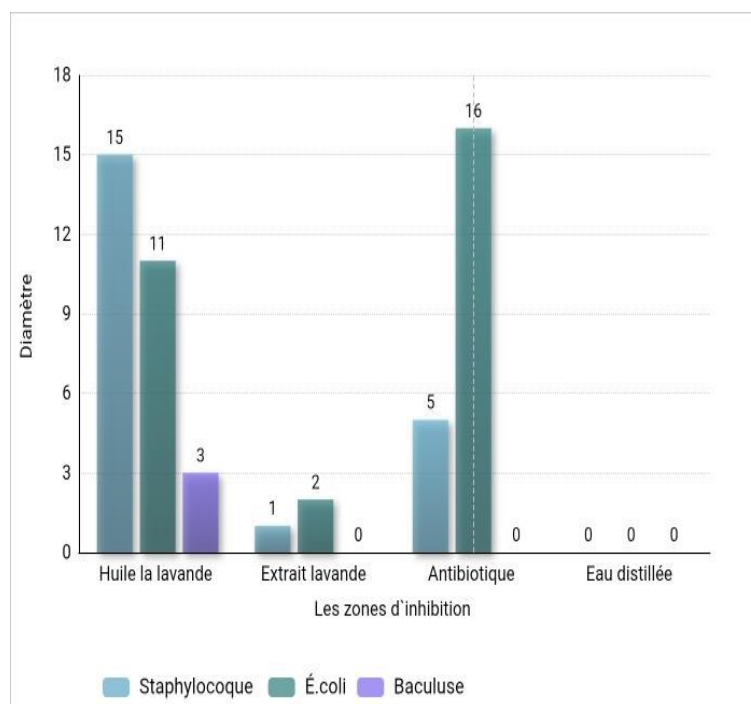


Figure 17. Histogramme de moyenne des zones inhibition des souches sélectionnée (t'est huile la lavande)

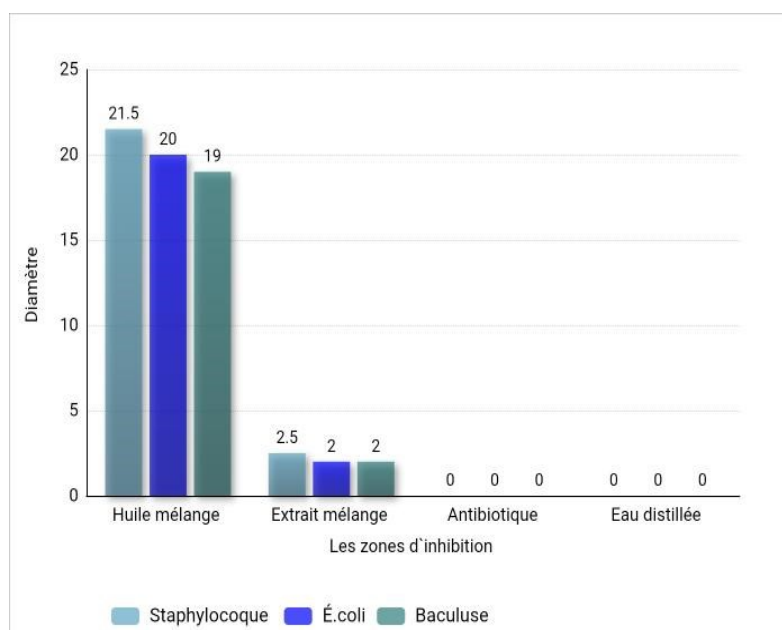


Figure 18. Histogramme de moyenne des zones inhibition des souches sélectionnée (test huile mélange)

III.4. Analyse comparative des résultats

En comparant les résultats des trois tests, nous avons constaté que l'huile essentielle de romarin [18 mm, 20 mm, 15 mm] avait un effet plus important sur les bactéries que l'huile essentielle de lavande [15 mm, 11 mm, 2 mm]. Cependant, nous avons constaté que l'association des deux huiles (romarin et lavande) était plus efficace et efficiente que l'utilisation de l'une ou l'autre seule. Les résultats étaient les suivants :[21,5 mm, 20 mm, 19 mm.]

Quant à l'extrait méthanolique, nous constatons que l'extrait méthanolique de romarin, qui a les résultats suivants (12 mm, 15 mm, 15 mm), est plus efficace que l'extrait méthanolique de lavande, ainsi que le mélange entre eux, tandis que l'effet de l'antibiotique reste constant en raison de la similitude de ses résultats.

Conclusion

Conclusion

Conclusion générale

Khenchela est considéré comme l'un des États riches en plantes aromatiques, notamment le romarin et la lavande, car c'est un État riche en chaînes de montagnes, ce qui en fait un foyer pour les humains.

Nous avons mené nos travaux en étudiant l'activité antibactérienne du romarin et de la lavande.

Une étude de l'activité du romarin contre les bactéries grâce à ses extraits a montré que

- Le taux d'extraction des huiles essentielles était de 2,12 %.
- Le taux d'extraction de l'extrait méthanolique était de 9,68 %.

L'effet de l'huile essentielle de romarin sur des souches sélectionnées est très fort, ce qui signifie que les bactéries *E. coli*, *Staphylococcus* et *Bacillus* n'y ont aucune résistance. Cela signifie qu'ils sont très sensibles à cette huile.

Contrairement à l'extrait méthanolique, où de faibles niveaux ont été observés, nous concluons que l'huile a une propriété distincte de réduction de la croissance bactérienne.

Concernant l'activité de la lavande contre les bactéries :

- Le pourcentage d'extraction d'huile essentielle atteint 2,0%.
- Alors que le taux d'extraction de l'extrait méthanolique a atteint 10,13 %.

L'effet de l'huile essentielle de lavande sur les trois souches bactériennes susmentionnées est fort et elles ne montrent aucune résistance à celle-ci, contrairement à l'extrait méthanolique, qui n'a enregistré aucun effet.

Nous avons vu qu'un mélange d'huile essentielle de romarin et d'huile essentielle de lavande a un effet plus fort et plus efficace que les huiles essentielles ci-dessus seules. À propos des trois souches bactériennes (*E. coli*, *bacilles* et *staphylocoques*)

Donc. Notre étude est une étude de tests préliminaires et de résultats qui nécessitent des études complémentaires pour obtenir des informations plus certaines.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques

AtikBekkara et al ., 2007)Atik Bekkara, F., Maiza, M., & Maizi, N. (2007). Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso. d'Algérie. *Journal of Essential Oil Research*, 19(5), 450-455.

Blažeković et al., 2010).Blažeković, B., Vladimir-Knežević, S., Brantner, A. et Bival Štefan, M. (2010). Évaluation du potentiel antioxydant de *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka' : une étude comparative avec *L. angustifolia* Mill. *Molécules*, 15(9), 5971-5987.

BOUZID, A., CHADLI, R., BOUZID, K.(2017), « Etude ethnologique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbès en Algérie occidentale » *Phytothérapie*, V.15 , 373-378

Caillet et Lacroix, 2007).Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2007). Effets inhibiteurs de certaines huiles essentielles de plantes sur la croissance de quatre bactéries pathogènes : *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18(5), 414-420.

Gonzalez-trujano et al., (2007). González-Trujano, M. E., Contreras-Hernández, I., et Ponce-Monter, H. (2007). Effet antinociceptif de l'extrait hydroalcoolique d'*Heliopsis longipes* chez la souris. *Biologie pharmaceutique*, 45(1), 1-7.

Hadoushi et al., 2009) (Bruneiton, 1999). **Phytochemical** analysis and biological activities of plant extracts

Kaloustian et Hadj-Menaglo, 2012).Ces auteurs ont collaboré à des recherches liées aux sciences et technologies alimentaires, notamment sur les huiles et graisses alimentaires. Leurs travaux impliquent souvent l'analyse de la composition, des propriétés et de la stabilité de ces produits.

Kaloustian., et hadj M (2012) La connaissance des huilles essentiels ;Qualitologie aromathérapie entre science et tradition pour une application medical raisonnée paris France collection phytotherapie protique.

Références bibliographiques

Laiche et Mecheri,(2023) : Extraction des huiles essentielles et hyprolat p(26).

Annexes

Annexes

Annexes

L'équipement de l'étude antibactérienne :

- Méthanol,
- L'eau physiologique, BaCl₂,
- Gélose Nutritive,
- Gélose de Mueller Hinton,
- Bouillant nutritive
- Les équipements
- Autoclave
- Four
- Pasteur
- Etuve
- Verrerie
- Réfrigérateur
- Boîtes de pétri.
- Couvaient
- Préparations les solutions :
- Préparation le méthanol : 5 g+100 µl DMSO.