



*République Algérienne Démocratique
Et Populaire.*



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique.

UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR KHENCHELA.

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE.

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET CELLULAIRE

MÉMOIRE

Présenté Pour l'obtention du Diplôme de

Master académique.

FILIERE : Biologie.

OPTION : Microbiologie.

Thème

**Contribution à L'étude de l'activité
antibactérienne des huiles essentielles de
quelques plantes médicinales**

Présentés par:

Goundi Sabrina

Hafiane Sabrine

Soutenu le: 04/07/2017

Jury de soutenance:

Président: Dr. Fercha Azzedine (M.C.B) Univ. Abbes Laghrou-Khenchela.

Rapporteur: Dr. ZERAIB Azzedine (M.C.B) Univ. Abbes Laghrou-Khenchela.

Examineur: M. BOUSSAA Abdelhalim (M.A.A) Univ. Abbes Laghrou-Khenchela.

Promotion: 2017.

TABLE DES MATIÈRES

Titre	page
Abréviations	IV
Liste des figures	V
Liste des tableaux.....	VI
Introduction générale	1
<i>PREMIER CHAPITRE: Synthèse bibliographique</i>	
I- Les huiles essentielles	3
I-1- Définition	3
I-2- Compositions chimiques des huiles essentielles	3
I-3- Techniques d'extraction des huiles essentielles	3
I-3-1- L'hydro distillation simple	4
I-3-2- La distillation à vapeur saturée	4
I-3-3- L'hydro diffusion	5
I-4- Les huiles essentielles et leur activité antimicrobienne	5
II- Les antibiotiques	7
II-1- Définition des antibiotiques	7
II-2- Classification	7
a- β -lactamines	7
b- Glycopeptides	8
c- Aminosides	8
d- Macrolides	8
e. Quinolones	8
II- 3- Les effets des antibiotiques sur la croissance des bactéries	9
II-3-1- Bactériostase	9
II-3-2- Bactéricide	9
II-4- Mode d'action des antibiotiques	10
a- La paroi	10
b- La membrane cytoplasmique	10
c- Le chromosome	11
d- Le ribosome	11
II-5- Résistance aux antibiotiques	11

II-5-1- La résistance naturelle	11
II-5-2- La résistance acquise	12
II-6- Mécanisme de résistance	12
III- Présentation des espèces étudiées	13
III-1- Les espèces végétales	13
III-1-1- L'espèce <i>Lavandula stoechas</i> L	13
III-1-1-1- Position systématiques	14
III-1-1-2- Description botanique	14
III-1-1-3- Utilisation médicinal	15
III-1-2- L'espèce de <i>Thymus algeriensis</i> Boiss&Reut	16
III-1-2-1- Classification taxonomique	16
III-1-2-2- Description morphologique	16
III-1-2-3- Utilisation médicinales	17
III-1-3- L'espèce <i>Myrtus communis</i> L	18
III-1-3-1- Description botanique	18
III-1-3-2- Position systématique	19
III-1-3-3- Utilisation médicinales et traditionnelle	19
III-1-4-Présentation d' <i>Artemisia herba alba</i> .Asso	19
III-1-4-1- Description botanique	20
III-1-4-2- Position systématique de l'espèce d'A. herba alba	20
III-1-4-3- Utilisation traditionnel	21
III-2-Les espèces bactériennes	21
III-2-1- <i>Staphylococcus aureus</i>	21
III-2-1-1- Description morphologique	21
III-2-1-2- Classification	22
III-2-1-3- Pouvoir pathogène	22
III-2-2- <i>Escherichia coli</i>	23
III-2-2-1- Description morphologique	23
III-2-2-2- Classification	24
III-2-2-3- Pouvoir pathogène	24
III-2-3- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
III-2-3-1- Description morphologique	24
III-2-3-2- Classification	25

III-2-3-2- Physiopathologie	26
III-2-4- Listeria monocytogenes	26
III-2-4-1- Morphologie	26
III-2-4-2- Position taxonomique	27
<u>DEUXIÈME CHAPITRE: Matériel et Méthodes</u>	
I- MATERIEL	28
I-1- Matériel végétal	28
I-2- Les souches bactériennes testées	29
I-3- Réactifs chimique et instrumentations	29
II- METHODES	29
II-1- L'extraction des huiles essentielles	29
II-2- Méthodes microbiologiques	30
II-2-1- Préparation de l'inoculum	31
II-2-2- Mode opératoire	31
II-3- L'effet antibactérienne de l'association des HES avec les ATBS	32
<u>TROISIÈME CHAPITRE: Résultats et discussion</u>	
I- L'antibiogramme	33
II- L'aromatogramme	35
III- L'effet du test de la combinaison	37
Conclusion	44
Références Bibliographiques	45

Liste des abréviations

ABS : Antibiotiques.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

ECVT : Escherichia coli verotoxinogène.

EPEC : Escherichia coli pathogène.

ETEC : Escherichia coli entéro-toxinogène.

EXPEC : Escherichia coli extra intestinaux.

G+ : Gram positive

G- : Gram négative.

GC : Guanine cytosine.

HES : Huiles essentielles.

K+ : potassium.

LC/ SM-EST : Chromatographie en phase liquide spectrométrie de masses mode ionisation electrospray.

LPS : Lipopolysaccharide.

MVAG : Milieu d'attaque des voies des glucides.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

SARM : Staphylococcus résistant à la méthicilline.

STEC : Escherichia coli producteur de toxine Shiga.

Liste des figures

N°	Titre de la figure	Page
01	Appareillage utilisé pour l'hydro distillation.	04
02	schéma du montage de distillation à vapeur saturée .	05
03	Noyau du bêta lactame.	08
04	<i>Lavandula stoechas</i>	16
05	<i>Thymus algeriensis</i> en stade de floraison	17
06	<i>Myrtus comminus L</i>	18
07	l'espèce <i>Artemisia herba-alba</i> dans son milieu naturel au début de la saison de floraison.	20
08	La forme des cocci staphylocoques.	22
09	La forme des bacilles de l' <i>E. coli</i> .	23
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	5
11	<i>Listeria monocytogenes</i> .	27
12	Localités des espèces échantillonnées.	28
13	Montage de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau.	30
14	Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque d'antibiotique.	31
15	Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis des quatre antibiotiques : Pénicilline, oxacilline, streptomycine et vancomycine.	33-34
16	Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis la combinaison des HES avec les antibiotiques.	40-42

Liste des tableaux

N°	Titre du tableau	Page
1	Lieux et dates d'échantillonnage.	28
2	Résultats de l'antibiogramme des quatre antibiotiques testés sur quatre souches bactériennes.	33
3	Résultats de L'aromatogramme des quatre huiles essentielles testés sur quatre souches bactériennes.	36
4	Résultats de combinaison AB+HE.	37

Introduction générale

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (OMS, 2002). Des avantages économiques considérables dans le développement de cette médecine et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (Muthu *et al.*, 2006). Par conséquent, la recherche des principes actifs potentiels de la plante est plus que jamais d'actualité.

La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue une véritable préoccupation (Akoua *et al.*, 2004, Guessennd *et al.*, 2004). Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général et concerne toutes les espèces bactériennes et ne cesse pas d'augmenter.

La montée des résistances est due à la prescription immodérée et souvent inappropriée des antibiotiques. Administrés à titre curatif ou préventif, les antibiotiques favorisent l'élimination des bactéries sensibles et la sélection des plus résistantes. La prolifération de bactéries résistantes est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé. En devenant insensibles à tout traitement, ces bactéries limitent la gamme d'antibiotique disponible en thérapeutique médicale. La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologiques et un accroissement du taux de mortalité. L'acquisition de ces multiples résistances a engendré une perte d'efficacité de l'antibiothérapie pour, finalement, conduire à une impasse thérapeutique (Singh et Barrett, 2006).

Au vu de la propagation du phénomène de résistance et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antibactériens, est devenue plus qu'indispensable.

Les plantes, qui ont déjà fourni à la médecine thérapeutiques majeures, comme l'aspirine, la morphine, laquinine ou le taxol, offrent un véritable potentiel pour la recherche de molécules à activité antibactérienne. Peu d'espèces végétales sont connues et seule une minorité d'entre elles est explorée chimiquement. Il resterait entre 300 000 et 500 000 espèces de plantes à découvrir (UNEP- WCMC, 2002) ce qui laisse présager un nombre conséquent de nouvelles molécules à identifier. Hormis cette vaste biodiversité, les plantes combinent un ensemble de critères, qui justifient le regain d'intérêt pour l'exploitation de cette source naturelle.

Les molécules actives, impliquées dans les mécanismes de défense des plantes, sont issues du métabolisme secondaires. Elles ne participent pas directement à la croissance des plantes, mais ont évolué pour leur fournir une protection naturelle contre les attaques de microbes ou d'insectes. Une partie de ces métabolites secondaires se concentre dans les sacs oléifères, qui sont des poches sécrétrices d'huiles essentielles. L'exploration des huiles essentielles pour la recherche à activité antibiotique semble donc être une voie intéressante (Prescott *et al*; 1995).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche qui a pour objectif l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de quatre espèces à savoir : *Lavandula Stoechas*, *Thymus algeriensis*, *Myrtus communis* et *Artemisia herba-alba* et de leurs HES en association avec les antibiotiques.

Le premier chapitre est une mise au point bibliographique décrivant les notions essentielles à la compréhension de notre travail (définition des huiles essentielles, leurs propriétés, les techniques d'extraction et leurs activités biologiques, les antibiotiques et leur mode d'action et une description des espèces végétales étudiées ainsi que des espèces bactériennes utilisées). Le deuxième chapitre décrit la méthodologie adoptée. Le troisième chapitre consiste à une analyse des résultats obtenus et leur discussion. Enfin le manuscrit se terminera par une conclusion générale.

I- Les huiles essentielles

I-1- Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolées par hydro distillation ou par expression mécanique (**Kalemba, 2003**). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (**Burt, 2004**).

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

De nombreuses techniques permettant d'augmenter le rendement de production ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (**Santoyo et al., 2005**) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (**Kimbrais et al., 2006**).

I-2- Compositions chimiques des huiles essentielles

Les compositions chimiques de nombreuses huiles essentielles ont été décrites. Elles varient en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (**Delaquis et al., 2002 ; Gonny et al., 2004 ; Burt., 2004 ; Boti et al., 2006 ; Oussou et al., 2009**). Elles sont constituées généralement de nombreux composés appartenant principalement à deux familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés de phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent les mono terpènes en (C10), les sesquiterpènes (C15), les di terpènes (C20) et les tri terpènes en (C 30). Ils ont la même origine métabolique. Ces terpènes peuvent être acyclique, monocyclique ou bi cycliques (**Benegouta et al., 2005**).

I-3- Techniques d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérables de certains de leur constituants.

I-3-1- L'hydro distillation simple

Le principe de l'hydro distillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à ébullition (**fig.1**). La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est-à-dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur de l'eau. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température d'un milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, d'oxydation, d'isomérisation, etc. qui peuvent être très sensibles et conduire à une dénaturation des composants (**Bruneton, 1999**).

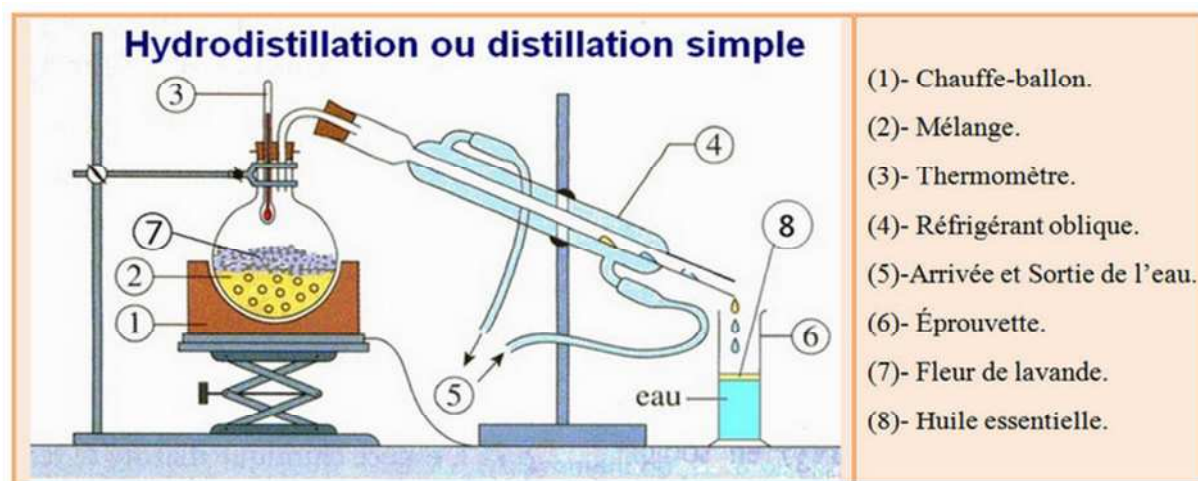


Figure 1 : Appareillage utilisé pour l'hydro distillation (**Bourrel, 1993**).

I-3-2- La distillation à vapeur saturée

Dans cette variante, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée à travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales. En générale, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition de l'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées (**Wichtl et Anton, 2003**). Pour certaines productions (*lavande, menthe*), on utilise des alambics mobiles qui sont en fait des bennes de récolte conçues pour être intercalées par l'agriculture, après remplissage, dans un montage de distillation (**Bruneton, 2008**).

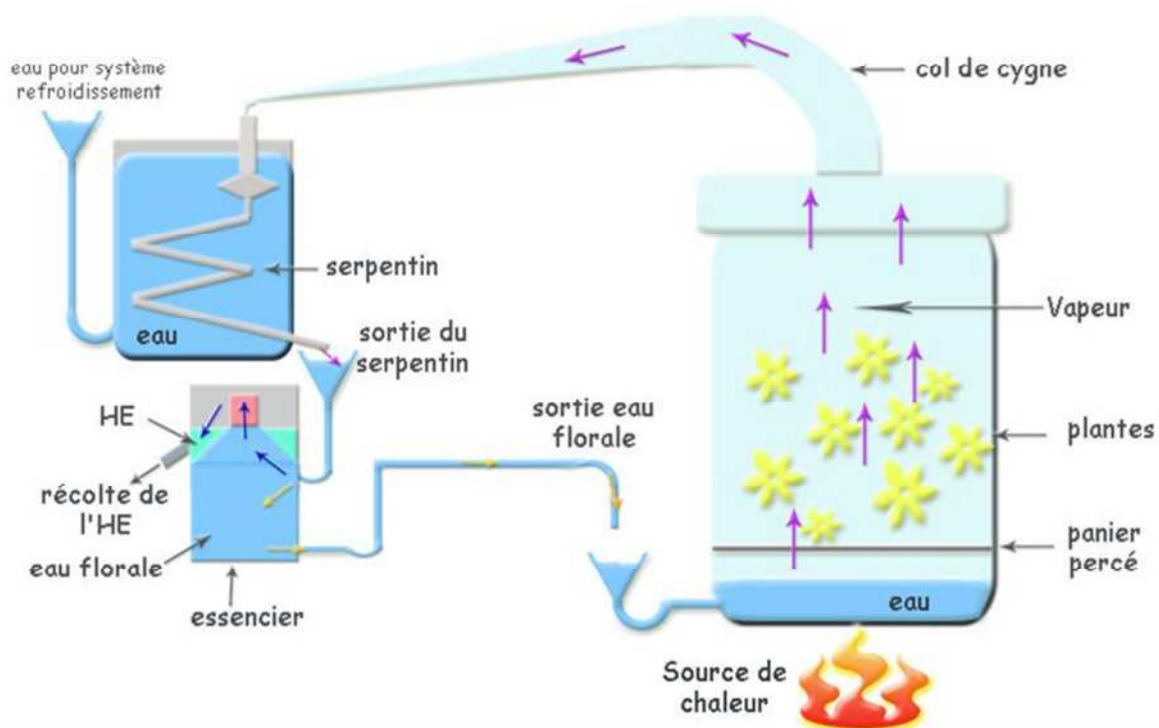


Figure 2 : schéma du montage de distillation à vapeur saturée (Bruneton, 2008).

I-3-3- L'hydro diffusion

Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie (Bussereau, 2007).

I-4- Les huiles essentielles et leur activité antimicrobienne

L'objectif principal de cette partie est la présentation de l'action antimicrobienne des huiles essentielles, des mécanismes d'action de ces composés sur les microorganismes et de certains facteurs déterminant cette activité. La fonction des huiles essentielles est utilisée depuis des siècles mais n'a été reconnue que récemment. Découverte scientifiquement au début du XX^{ème} siècle par le Dr. Gatte Fossé, son utilisation s'est développée pour devenir depuis une trentaine d'années une véritable alternative aux antibiotiques lors des infections. Cette fonction antibactérienne s'exerce de deux manières différentes selon les microorganismes :

- Soit l'huile essentielle à une activité létale ou bactéricide : elle rend perméable la membrane du microorganisme, provoquant une fuite d'ions potassium K^+ , ce qui implique la perte de l'osmose chimique de la cellule, suivie de sa mort ;

-Soit elle à une activité inhibitrice ou bactériostatique : elle empêche la croissance du microorganisme.

Les molécules des huiles essentielles qui permettent cette activité antimicrobienne sont les terpénoïdes, grâce à leur solubilité en phase aqueuse et à leurs propriétés lipophiles. Parmi les plus efficaces sont les alcools, les phénols et les aldéhydes (**L'Afssaps, 2008**).

C'est ainsi que l'action des huiles est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs. Ces derniers (composés inactifs) pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique (**Azalenko, 2005**). Les proportions des différents constituants d'une huile essentielle peuvent varier de façon importante tout au long du développement aussi les chimio-types ou races chimiques sont très fréquentes.

De fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HES, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**). L'action des huiles essentielles s'exerce sur un large spectre de bactéries, incluant Gram positifs et Gram négatifs. La structure de la paroi cellulaire des Gram positifs les rend toutefois plus sensibles à l'action des huiles essentielles (**Burt, 2004**). De façon générale, il a été observé une diversité d'action toxique des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules. Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K^+). Ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries (G+) (*Staphylococcus aureus*) et (G-) (*E. coli*) et levure (*Candida albicans*) in vitro (**Carson et al., 2002**).

II- Les antibiotiques

II-1- Définition des antibiotiques

Les antibiotiques sont des composés antimicrobiens et sont plutôt des substances naturelles que synthétiques. Ils sont produits par un large éventail de micro-organismes fongiques et bactériens. Un grand nombre d'antibiotiques a été identifié en milieu naturel, mais moins de 1% sont médicalement utiles. Cependant, ceux qui le sont ont eu un impact déterminant sur le traitement des maladies infectieuses. Beaucoup d'antibiotiques naturels ont été structurellement modifiés en laboratoire, pour augmenter leur efficacité formant ainsi, la classe des antibiotiques semi-synthétiques (**Madigan et Martlino, 2007**). Mais toutefois chaque antibiotique a une spécificité d'action. Ils n'agissent pas sur les virus (**Figarella, et al., 2007**).

II-2- Classification des antibiotiques

Pour pouvoir mieux connaître les antibiotiques afin qu'ils soient utilisés à bon escient, on a procédé à leur classification selon certains critères:

- Les antibiotiques ayant une même structure chimiques, à l'origine de leur mécanisme d'action, se classent dans une même famille;
- Au sein d'une même famille, les antibiotiques peuvent se différencier par leur spectre d'activité et sont réunis alors dans des groupes;
- Au sein d'un même groupe, l'activité antimicrobienne est identique mais les antibiotiques peuvent se différencier par leur propriété pharmacologique ou leur tolérance (**Talbert et al., 2009**). On a 5 grandes familles des antibiotiques :

a. β -lactamines

Les bêta-lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibiothérapie. Ils représentent une vaste famille d'antibiotiques bactéricides qui possèdent comme structure de base le cycle bêta-lactame (**fig. 3**) (**Laurent, 2009**).

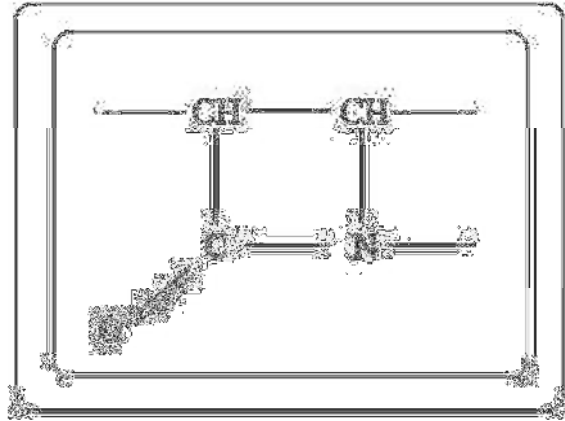


Figure 3: Noyau du bêta lactame.

b. Glycopeptides

Les antibiotiques importants que renferme cette famille sont la Vancomycine et Teicoplanine. Ces deux molécules n'agissent que sur les bactéries à Gram positif en inhibant la synthèse du peptidoglycane et donc la croissance des bactéries (**Mouton *et al.*, 2000**) .

c. Aminosides

Leur structure est à base de sucres aminés Les principales molécules sont : Streptomycine, Gentamicine, Netilmicine, Tobramycine, Amikacine. Est un antibiotique bactéricide. Ils se fixent de façon irréversible sur le ribosome des bactéries et inhibent la traduction en provoquant des erreurs de lecture de l'ARN messager (**Archambaud, 2009**).

d. Macrolides

Les antibiotiques macrolides sont caractérisés par le cycle lactone relié aux molécules de sucres. Il y a une grande variété d'antibiotiques macrolides, le plus connu est l'érythromycine. Il est un inhibiteur de synthèse de protéine au niveau de la sous-unité 50S du ribosome (bactériostatiques) (**Madigan *et Martlnko*, 2007**).

e. Quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides à large spectre, on distingue les antibiotiques de:

- 1ère génération : Acide nalidixique ;
- 2ème génération : fluoroquinolones : Norfloxacin, Ofloxacin, Ciprofloxacin ;
- 3ème génération : Lévofoxacin, Moxifloxacin.

Ils sont très efficaces contre les bactéries entériques comme *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* et contre *Haemophilus*, *Neisseria*, *Pseudomonas aeruginosa* et d'autres bactéries pathogènes Gram négatives, ainsi que les Gram positives telles que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* et *Mycobacterium tuberculosis*. Ils sont utilisés dans le traitement des infections du système urinaire (**Prescott et al., 2007**).

II-3- Les effets des antibiotiques sur la croissance des bactéries

L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types de modalité:

II-3-1- Bactériostase

- La Bactériostase correspond à un ralentissement de la croissance bactérienne, pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance. Ceci ne vaut que si la bactérie était en phase de croissance avant le contact. Dans le cas contraire une absence de développement peut aussi correspondre à une augmentation très prononcée du temps de latence
- La Bactériostase peut être étudiée en milieu liquide, par exemple par un suivi photométrique de la croissance des micro-organismes en présence de concentrations variées d'antibiotiques (**Gaudy et Buxeraud.J ,2005**).

II-3-2- Bactéricide

- Certains antibiotiques provoquent, au-delà d'une certaine concentration seuil, l'apparition d'une mortalité bactérienne. L'effet peut être proportionnel à la concentration d'antibiotique (le plus souvent jusqu'à une concentration au-delà de laquelle il n'y a plus d'accroissement de la totalité) l'effet est de type. « tout-ou-rien ». la vitesse de la mortalité est maximale dès que la concentration seuil de bactéricide est atteinte (**Gaudy et Buxeraud.J ,2005**).

Dans le premier cas on parlera de mortalité dépendante de la concentration (ou «concentration dépendante»); dans le second cas on parlera de mortalité dépendante du temps d'expression à l'antibiotique (ou «temps dépendant») (**ouvrage collectif de l'association des professeurs de bactériologie-virologie hygiène hospitalière des facultés de médecine**) livre de bactériologie.

II-4- Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques se différencient des antiseptiques par leur mécanismes d'action, ils agissent à un niveau précis des structures bactériennes, dénommé site d'action. L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. Pour résumer ces dernières, on peut dire que pour être actif, un antibiotique doit :

- Pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne ;
- Ne pas être inactivé ;
- Être capable de se lier à sa cible.

Les quatre cibles principales bactériennes sont :

a. La paroi : inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (bêta-lactamines, glycopeptides, fosfomycine) (Talbertt *et al.*, 2009).

La pénicilline et les antibiotiques chimiquement apparentés empêchent la réaction de transpeptidation qui est une étape importante dans l'assemblage du peptidoglycane, le polymère de la paroi cellulaire. Ceci entraîne la fragilisation de la paroi cellulaire, notamment chez les micro-organismes Gram positif. Les micro-organismes vivant généralement dans un environnement osmotiquement hostile, et ceux qui auront une paroi défectueuse, pourront absorber de l'eau et éclater ou se lyser. Les bactéries Gram négatives ont tendance à être moins sensibles à la pénicilline car leur enveloppe externe empêche l'antibiotique d'atteindre la couche de peptidoglycane de la cellule (Perry *et al.*, 2002).

b. La membrane cytoplasmique : inhibition de la synthèse de la membrane (polymyxines) (Talbert *et al.*, 2009).

La polymyxine et la tyrocidine sont tous deux, des antibiotiques polypeptidiques qui altèrent les membranes cellulaires. Les deux sont produites par des bactéries du genre *Bacillus*. La tyrocidine est un ionophore, qui perturbe la perméabilité sélective en formant des canaux à travers la membrane cellulaire, entraînant la perte de cations monovalents. Par conséquent, le microorganisme ne peut établir de force proton motrice, et le transport vers l'intérieur ou l'extérieur de la cellule est altéré. La polymyxine provoque des dommages similaires à la membrane cytoplasmique. Les antibiotiques peptidiques ne sont pas ingérés mais sont appliqués par voie externe pour traiter des infections de la peau. Les enzymes présentes dans le tractus intestinal sont capables de dégrader ce type d'antibiotiques (Perry *et al.*, 2002).

c. Le chromosome : inhibition de la synthèse de l'ADN (quinolones) (**Talbert et al., 2009**) Les quinolones inhibent l'ADN gyrase et interfèrent ainsi avec la réplication, la réparation et la transcription de l'ADN (**Prescott et al., 2007**).

d. Le ribosome : inhibition de la synthèse protéique (cyclines, aminosides, macrolides) (**Talbert et al., 2009**)

Les antibiotiques antibactériens qui inhibent la synthèse protéique, le font par fixation au ribosome bactérien (**Perry et al., 2002**). Dans certaines situations cliniques, l'association de deux antibiotiques ayant des sites d'action distincts sur la bactérie permet d'obtenir une meilleure efficacité thérapeutique (**Talbert et al., 2009**) Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interfèrent avec la synthèse des parois bactériennes (les pénicillines, les céphalosporines, la vancomycine et la bacitracine). Ces produits ont un indice thérapeutique élevé parce que les parois bactériennes possèdent une structure unique inexistante dans les cellules eucaryotes (**Prescott et al., 2007**).

II-5- Résistance aux antibiotiques

Les antibiotiques ont été qualifiés de « médicaments miracle » car ils provoquent une spectaculaire guérison pour des maladies, autrefois, considérées comme incurables. Cependant, un problème a surgi après leur usage généralisé. L'utilisation intensive de la pénicilline comme agent chimio thérapeutique a conduit à l'évolution de souches bactériennes pathogènes qui sont devenues insensibles au médicament. Lorsque la pénicilline G fut nouvellement introduite, toutes les souches de *Staphylococcus aureus* étaient théoriquement sensibles au médicament. Après seulement dix ans, la plupart des infections staphylococciques acquises en milieu hospitalier étaient dues à des souches résistantes à la pénicilline (**Perry et al., 2002**).

Les bactéries deviennent résistantes aux antimicrobiens par différentes manières, quelques micro-organismes sont naturellement résistants mais d'autres, ont une résistance acquise.

II-5-1- La résistance naturelle

L'organisme peut perdre la structure que l'antibiotique inhibe, comme c'est le cas pour les mycoplasmes qui perdent les parois cellulaires et ne sont donc pas affectés par la pénicilline (**Perry et al., 2002**). De même, la pénicilline G ne peut pas atteindre la paroi de nombreuses bactéries Gram-négatifs parce qu'elle ne peut pas traverser la membrane de l'enveloppe externe (**Prescott et al., 2007**). La structure de la paroi cellulaire et la membrane

cytoplasmique d'un organisme peut être imperméable à un antibiotique, c'est l'exemple de mycobactéries qui sont résistantes à beaucoup de médicaments car ils ont à l'extérieur du peptidoglycane une couche lipidique complexe riche en acides mycoliques (**Prescott et al., 2007**).

II-5-2- La résistance acquise

Elle apparaît avec l'emploi en thérapeutique des antibiotiques chez un certain nombre d'espèces bactériennes initialement sensibles. Cette résistance est évolutive : elle varie en fonction du temps, de la localisation (épidémie) et de l'utilisation des antibiotiques qui ne provoquent pas la résistance mais qui sélectionnent les bactéries résistantes. Les gènes de résistance peuvent être acquis par transformation de gènes étrangers provenant de chromosomes d'autres espèces ou être portés par des éléments mobiles (transposons, Intégrons) (**Vaubourdolle., 2007**).

Certaines bactéries deviennent résistantes aux antibiotiques en acquérant un fragment d'ADN, appelé plasmide, donné par une bactérie résistante. De plus, elles peuvent transmettre cette propriété à des bactéries d'espèces différentes par transfert de ces plasmides. La résistance acquise ne se manifeste donc que chez certains individus de la population bactérienne. En milieu hospitalier, où on utilise de nombreux antibiotiques, ce phénomène est bien connu. On a le risque d'apparition des bactéries multirésistantes (**Figarella et al., 2007**). L'acquisition de la résistance peut aussi résulter d'une mutation chromosomique responsable de la modification ou de la perte d'un gène pouvant entraîner:

- Une modification de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques;
- Une modification de la cible pariétale ou intracellulaire (**Vaubourdolle., 2007**).

II-6- Mécanismes de résistance

a. L'exemple le plus connu est l'hydrolyse du noyau β -lactame de nombreuses pénicillines (**Prescott et al., 2007**), par la souche *Staphylococcus aureus* qui produit la pénicillinase, une enzyme qui détruit la molécule de pénicilline (**Perry et al., 2002**).

b. Il existe un autre mécanisme qui explique la non-accumulation de l'antibiotique à l'intérieur de la bactérie ; c'est l'excrétion ou l'efflux actif. L'antibiotique rentre dans la bactérie, mais, avant qu'il puisse se fixer sur sa cible, il est pris en charge par des protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie (ex : *Pseudomonas aeruginosa*). Ce système fonctionne avec une protéine de la membrane cytoplasmique qui est le transporteur

ou la pompe, une protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion et une protéine périplasmique chargée d'assurer la liaison entre les précédentes (**Gaudy et al., 2005**).

c. Une accumulation graduelle de mutations sur l'ADN chromosomique peut rendre les structures cellulaires inaptées à la fixation de l'antibiotique ou d'un autre composé chimique. Par exemple, le gène pour la synthèse de la transpeptidase chez le staphylocoque peut muter de telle sorte que l'enzyme ne se lie plus à la pénicilline (**Perry et al., 2002**).

Un traitement massif aux antibiotiques favorise le développement et la propagation de souches résistantes car l'antibiotique détruit les bactéries sensibles qui pourraient habituellement concurrencer les souches résistantes. La conséquence peut en être l'émergence de germes pathogènes résistants conduisant à une surinfection. Les surinfections constituent un problème important en raison de l'existence de bactéries multirésistantes souvent responsables d'infections respiratoires et urinaires résistantes aux antibiotiques (**Prescott et al., 2007**).

Le dosage conseillé correspond généralement au seuil d'efficacité du produit antimicrobien (avec une marge de sécurité) (**Figarella et al., 2007**).

III- Présentation des espèces étudiées

III-1- Les espèces végétales

III-1-1- L'espèce *Lavandula stoechas* L.

Lavandula stoechas est communément appelée lavande des stoechas des ; lavande maritime ; lavande papillon ou lavande à toupet (**fig. 4**). Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et elle est aussi la lavande dont le territoire géographique est le plus vaste. (**Gill, K.S., Linseed. Publications and Information Division, Indian Council of Agricultural Research, 1987**).



Figure 04: *Lavandula stoechas* (Giray et al., 2008).

III-1-1-1- Position systématique

Règne : *Plantae*.

Division : *Magnoliophyta*.

Classe : *Magnoliopsida*.

Ordre : *Lamiales*.

Famille : *Lamiacées*.

Sous-famille : *Nepetoideae*.

Genre : *Lavandula*.

Espèce : *lavandula stoechas*.

III-1-1-2- Description botanique

Lavandula stoechas se présente sous la forme d'un arbrisseau ou d'un buisson très aromatique et très ramifié pouvant atteindre un mètre de haut avec une lourde odeur semblable à celle du pin. Les feuilles opposées de 2-4 cm de long sont sessiles, tomenteuses, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords et sont souvent grises. Les inflorescences de coupe carrée sont sessiles, compactes et sur montées d'une couronne de bractées florales violettes, élargies, stériles, obovales ou spatulées de 1 à 2 cm de longueur. Les bractées fertiles sont largement ovales à obovales su trilobées, brièvement acuminées, membraneuses, veinées et plus courtes que le calice. Le Calice est sessile, à treize nervures

avec des lobes moyens modifiés en un appendice. La Corolle est de couleur violet foncée ou mauve (**Ghazi et Sahraoui., 2014**).

Les fruits sont sans intérêt économique comme tous ceux de la famille .Ils permettent cependant la production de graines. Les taxons de la section *Stoechas* s'hybrident facilement pour donner de nombreux taxons variant. Contrairement à beaucoup d'autres lavandes, cette lavande préfère les sols siliceux et les terrains acides. Elle supporte la mi ombre et tolère le froid jusqu'à -5°C. La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne (**Giray et al., 2008**).

III-1-1-3- Utilisation médicinale

Lavandula. Stoechas est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers toute la région méditerranéenne pour ses vertus médicinales, Elle était utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme céphalique (tonique), résolvente, désobstruant, et carminative. Ils la prescrivent pour lutter contre des infections pulmonaires et pour l'expulsion des humeurs bilieuses et flegmatiques. Elle est également utilisée comme insectifuge (**Heywood, 1996**).

La plante est également utilisée dans la médecine populaire comme antispasmodique dans les douleurs des coliques, [40], expectorante, stimulante et pour les différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine. Elle est appelée le balai du cerveau (**Heywood., 1996**).

Elle est d'ailleurs utilisée sous forme de fumigation pour soigner "le mal des sinus" (**Hornok.,1992**).

Cette lavande a aussi des effets positifs sur les plaies, les infections urinaires, les maladies cardiaques et l'eczéma (**Girre., 2001**).

Finalement, elle possède également des vertus analgésiques, sédatives, antiseptiques et antimicrobiennes En Algérie, *L. stoechas* est très connue sous le nom local "Halhal" et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant (**Hodek et al., 2002**). Dans la cuisine, elles sont également utilisées comme herbe culinaire pour préparer un type particulier de couscous.

III-1-2- L'espèce *Thymus algeriensis* Boiss & Reut:

L'origine du nom est sujette à diverses interprétations: Thym proviendrait du mot latin "*Thymus*" qui signifie "Parfumé", Thym à partir du mot grec "*Thumos*" qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Guy., 2005).

Le thym fait partie du genre *Thymus* défini comme un ancien groupe tertiaire, ayant son origine dans le sud-est de l'Espagne (Pariente., 2001).

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales à cause de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thymus comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Nickavar *et al.*, 2005).

III-1-2-1- Classification taxonomique

Thymus algeriensis est une espèce qui appartient à :

Règne : *Plantae*.

Embranchement : *Spermaphytes*.

Classe : *Magnoliopsida*.

Ordre : *Lamiales*.

Famille : *Lamiaceae*.

Genre : *Thymus*.

L'espèce: *Thymus algeriensis* Boiss & Reut.

III-1-2-2- Description morphologique :

Thymus algeriensis est un sous arbrisseau pouvant atteindre plus de 25 cm de long, d'une odeur forte, aromatisant très agréable (fig. 5). Cette plante est composée de :

Tige : ligneuse et rameuse, grêle plus ou moins dressée et velue, recouverte de feuilles opposées (Belhadi *et Ayat*, 2011).

Feuilles : Elles sont florales sessiles ou courtement pétiolées, décussées, Les thym possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncée, et qui sont recouvertes de poils et de glandes appelées *trichomes*. Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono terpènes (Soto *et al.*, 2006).

Fleurs : Elles sont rosées, elles sont forme grêle à fleurs très petites d'environ 5 à 6mm. Épis florifères courts et étroits ne dépassant guère 15×12 mm, elles groupées en épis, de couleur violette, pale, avec quatre étamines didynames (Guy, 2005; Soto *et al.*, 2006).



Figure 05 : *Thymus algeriensis* en stade de floraison.

III-1-2-3- Utilisation médicinales

Le thym est utilisé comme aromate en cuisine et comme plante médicinale, dans les tisanes ou même dans les bonbons. En tisane, il sert à soigner les infections respiratoires. Une tisane de thym est également efficace pour drainer le foie, ce qui fait qu'il est recommandé par la naturopathie pour les personnes subissant une chimiothérapie, traitement très destructeur pour le foie (Djerroumi et Nacef., 2004).

Recommandée contre tous les types de faiblesse, et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les affections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), les accidents articulaires et la cicatrisation des plaies et aussi l'expulsion des gaz intestinaux (Hans., 2007).

Il est considérée aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des affections respiratoires ; rhume, grippe, et angine. C'est aussi un excellent calmant (Yakhlef., 2010).

III-1-3- L'espèce *Myrtus communis* L.

III-1-3-1- Description botanique

C'est un arbuste de un à deux mètres de hauteur; en buissons denses d'un vert brillant (**fig. 6**). Il se remarque par ses fleurs blanches très ouvertes et ses nombreuses étamines en touffe ébouriffée. Son odeur aromatique forte et particulière est l'un de ses traits de caractère.



Figure 06: *Myrtus communis* L.

La plante renferme de nombreuses poches sécrétrices surtout au niveau des feuilles. Ces dernières sont ovoïdes lancéolées, 2 à 3 fois plus longue que larges, à nervation pennée persistantes, opposées, à très court pétiole, coriaces et d'un vert brillant (**Barboni., 2006 ; Quezel et Santa., 1963**).

Les fleurs apparaissent au début de l'été ; elles sont grandes 10-15 mm ; solitaires sur un long pédoncule à l'aisselle des feuilles et très odorantes et pourvues à la base de bractées très petites, rapidement caduques (**Barboni., 2006 ; Quezel et Santa., 1963**).

Les fruits sortent à l'automne, ce sont des baies ovoïdes 6-8 mm noires bleuâtres à peau charnue, conservant à leur partie supérieure les restes du calice. Ces fruits sont comestibles mais âpres et astringents (**Barboni., 2006 ; Quezel et Santa., 1963**).

Les rameaux sont de taille fine de couleur verte qui se transforme rapidement en brun orangé, pubescents dans leur jeunesse (**Barboni, 2006; Quezel et Santa., 1963**).

III-1-3-2- Position systématique

Règne : Plantae.

Sous-règne : Eucaryotes.

Embranchement : Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

Ordre : Myrtales.

Famille : Myrtaceae.

Genre : *Myrtus* L.

Espèce : *Myrtus communis* L.

Nom vernaculaire : Rayhan, Mersin

III-1-3-3- Utilisation médicinale et traditionnelle

Le Myrte est utilisé pour lutter contre les bronchites et les dilatations bronchiques, les catarrhes muco-purulentes des voies respiratoires et urinaires, la tuberculose pulmonaire, la rhinorrhées, la sinusite, les otites, les diarrhées, les prostatites, et les hémorroïdes. Elle est connu également par leur effet hypoglycémique (BabaAissa.,1999 ; Mimica-Dukic *et al.*, 2010).

III-1-4- Présentation d'*Artemisia herba-alba* Asso

L'*Artemisia herba-alba* (armoise herbe blanche) (**fig. 7**) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV^e siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie (Khireddine, 2013). C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail commepâturaged'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amerd'où son caractère astringent.

Plusieurs noms sont attribués à l'*Artemisia herba alba* Asso; thym des steppes, absinthedudésert. En Afrique du Nord et au Moyen-Orient, on l'appelle, en communément, (chih) ou (CHIH KHERSANI) selon les régions .L'*Artemisia herba alba* Asso est bien connue depuis l'Antiquité. Elle est citée dans la Bible à plusieurs reprises avec le nom hébreu. Le nom anglais Wormwood (attribué à toutes les armoises) fait allusion à son pouvoir vermifuge bénéfique pour l'homme et le bétail (Messai, 2011).



Figure 07: l'espèce *Artemisia herba-alba* dans son milieu naturel au début de la saison de floraison (Messai, 2011).

III-1-4-1- Description botanique

L'Armoise herbe blanche est une plante herbacée à tiges ligneuses (Pottier, 1981), ces tiges sont rigides et droites (Coline, 2002) et ramifiées, de 30 à 50 cm, très feuillées avec une souche païsse. Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes et à aspect argenté. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1,5 mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, les externes orbiculaires et pubescentes. Le réceptacle floral tenu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (Pottier, 1981). Elle se distingue par une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (Iucn, 2005). Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides. Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d'éviter ainsi les pertes d'eau (Fervhivhi *et al*, 2004).

III-1-4-2- Position systématique de l'espèce *Artemisia herba-alba*

Artemisia est le nom de genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis; herba-alba signifie herbe blanche (Messai, 2011). La classification botanique de l'espèce *A. herba-alba* est résumée dans le tableau ci-dessous.

Phylum : Angiospermeae.

Sous-phylum : Dicotylédones.

Ordre : Gampanulatae.

Famille : Asteraceae.

Sous-famille : Asteroideae.

Tribu : Anthemideae.

Sous-tribu : Artemisiinae.

Genre : Artemisia.

Espèce : Herba alba.

Nom binominal : Artemisia herba alba (Asso).

Nom vernaculaire algérien : Chih ; **Français :** Armoise blanche.

III-1-4-3- Utilisation traditionnel

L'*Artemisia herba alba* est très utilisé en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant qu'agent de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (**Gharabi, 2008**). De loin le plus fréquemment cité est l'utilisation de l'*Artemisia herba-alba* Asso dans le traitement du diabète sucré (**Twaijha et Al-badre, 1988**). Plusieurs études scientifiques ont également prouvé l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti malarien, anti pyrétique, anti spasmodique et antihémorragique (**Boudjelal., 2013**).

III-2- Les espèces bactériennes

III-2-1- *Staphylococcus aureus*

III-2-1-1- Description morphologique

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

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

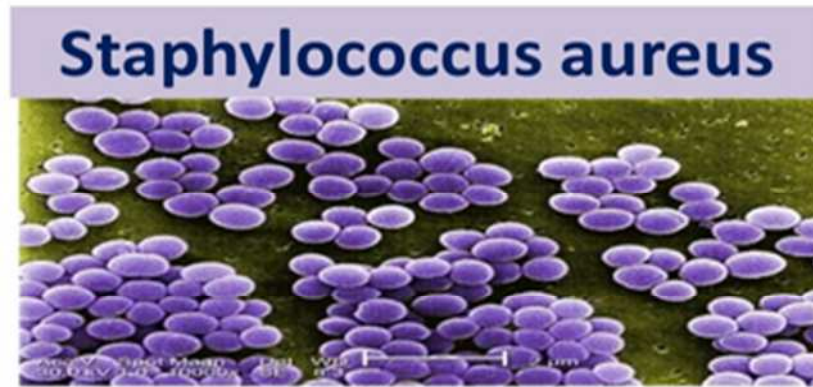


Figure 08: La forme des cocci staphylocoques.

III-2-1-2- Classification

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

Règne : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Classe : *Bacilli*.

Ordre : *Bacillales*.

Famille : *Staphylococcaceae*.

Genre : *Staphylococcus*.

Espèce : *Staphylococcus aureus*.

III-2-1-3- Pouvoir pathogène :

Les *staphylocoques* sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées et de degrés de gravité divers. Elles sont un des premiers agents responsables d'infections nosocomiales (infections contractées en milieu hospitalier) mais elles peuvent aussi être contractées en dehors de l'hôpital (infections dites communautaires). Leur habitat naturel est l'homme et l'animal. Elles font partie de la flore cutanée naturelle et colonisent particulièrement les muqueuses externes. Cependant, ces bactéries sont fréquemment retrouvées dans l'environnement (eaux non-traitées, sols, objets souillés). Les traitements visant à éradiquer les infections sont difficiles car de nombreuses souches sont multi-résistantes aux antibiotiques. Selon les services hospitaliers, ces dernières représentent entre 20 et 50% des souches. (Pfaller et al., 1988).

Toutefois, *S. aureus* (*Staphylocoque doré*) est la souche de *staphylocoque* la plus fréquemment rencontrée en pathologie humaine et vétérinaire. Elle partage avec la bactérie *Escherichia coli* le triste privilège d'être au premier rang des germes responsables d'infections nosocomiales (infections contractées à l'hôpital). En France, *S. aureus* est également en tête des bactéries responsables d'intoxications alimentaires. (Pfalleret et al., 1988).

III-2-2- *Escherichia coli* :

III-2-2-1- Description morphologique

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

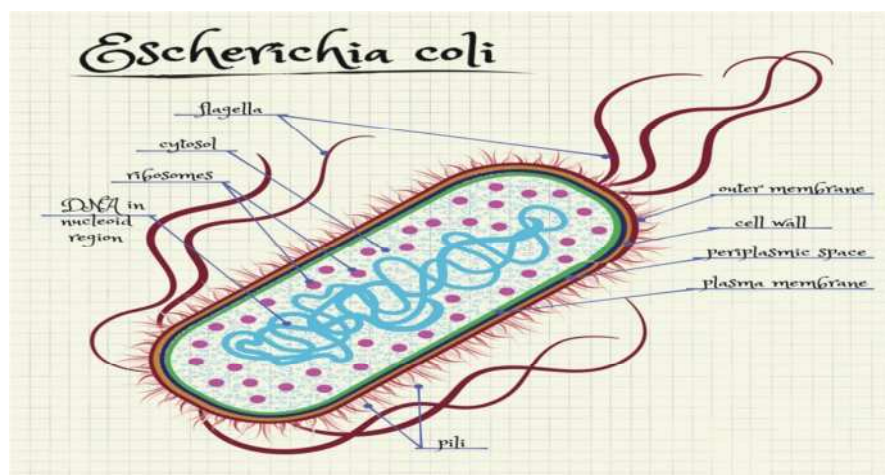


Figure 09: La forme des bacilles de l'*E. coli* (Le Minor et al., 1990).

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

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

III-2-2-2- Classification d'*Escherichia coli*. (Boulahbal et al., 2010).

Règne : *Procaryotae*.

Domaine : *Bacteria*.

Phylum : *Proteobacteria*.

Classe : *Gammaproteobacteria*.

Ordre : *Enterobacteriales*.

Famille : *Enterobacteriaceae*.

Genre : *Escherichia*.

Espèce : *Escherichia coli*.

III-2-2-3- Pouvoir pathogène

Escherichia coli est un agent ubiquiste faisant partie de la flore gastro- intestinale normale des mammifères et la plupart des souches d'*E.coli* sont inoffensives. Par contre certaines souches ont réussi à acquérir des attributs spécifiques leur permettant une adaptation à des nouvelles niches et leur offrant la capacité de causer diverses maladies. *Escherichia coli* est donc une cause importante de maladie, et ce, mondialement et chez la plupart des mammifères. Ces attributs spécifiques sont la plupart du temps encodés aux niveaux d'élément génétique qui peuvent être mobilisés vers différentes souches afin de créer des nouvelles combinaisons de facteurs de virulence (Kaper et al., 2004). Certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies (Darbouche, 2011). Les principaux pathotype chez les animaux de consommations sont les *E. coli* entéro-toxinogène (ETEC) ; *E. coli* entéro- pathogène (EPEC) ; *E. coli* producteur de toxine Shiga (STEC) ou verotoxinogène (VTEC) ; et *E. coli* extra- intestinaux (EXPEC) (Fraibrother et Nadeau, 2010).

III-2-3- *Pseudomonas aeruginosa***III-2-3-1- Description morphologique**

Pseudomonas aeruginosa se présente comme un fin bacille (0.5x3µm) asporulé et acapsulé, son extrême mobilité est dû à une ciliature polaire en général monotriche, gram négative, il possède souvent des granulations plus fortement colorées (C. Lilet ; J Bourdon ; B Toma ; N Marchal et C. Balbastre 1983).

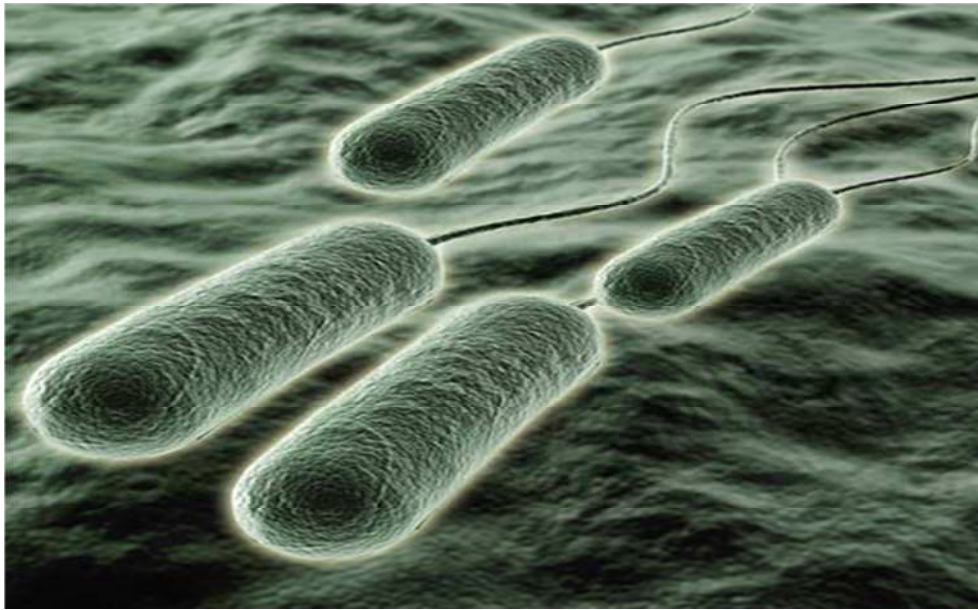


Figure 10 : *Pseudomonas aeruginosa* (Philippon et Lalande, 2005).

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie très peu exigeante se multipliant sur des milieux synthétiques simple. Sur gélose apparaissent des colonies de quelques millimètres de diamètre, plates ou surélevées, opaques, à surface assez dépolie, limite par un bord régulier ou finement dentelé, prenant en vieillissant des reflets métalliques. On peut aussi observer des formes rugueuses ou des formes muqueuses. Les dissociations sont fréquentes. En 2 à 4 jours, on assiste souvent à un bleuissement ou verdissement des milieux de culture dû aux pigments diffusibles élaborés par la bactérie (C. Lilet; J Bourdon; B Toma; N Marchal et C. Balbastre., 1983).

III-2-3-2- Classification :

Domaine : *Bactéria.*

Phylum: *Proteobacteria.*

Classe : *Gammaproteobacteria.*

Ordre: *Pseudomonadales*

Famille: *Pseudomonadaceae.*

Genre: *Pseudomonas.*

Espèce: *Pseudomonas aeruginosa.* (Prescott et Klein, 2003).

III-2-3-3- Physiopathologie :

Pseudomonas aeruginosa possède un grand nombre de facteurs de virulence jouant un rôle dans la location, la survie de la bactérie et l'invasion des tissus. Il possède des pilis de type IV permettant l'adhésion aux épithéliums. L'exoenzyme S ainsi que d'autres l'adhésion non pilis renforcent l'adhésion, l'exoenzyme S, localisée sur la membrane externe et capable de se fixer fortement aux glycosphingolipides, joue un rôle important. Le flagelle semble également intervenir dans l'adhésion et les souches non flagellées ont une virulence atténuée (La revue du praticien 1993).

Pseudomonas aeruginosa produit au moins quatre protéases qui provoquent des hémorragies et des nécroses tissulaires. La plus importante est une élastase qui agit sur l'élastine (composant structural majeur des tissus pulmonaires), la laminine, les collagènes de type III et IV et sur protéoglycane. Une protéase alcaline joue un rôle important dans la dégradation directe des protéines des tissus cornéens, mais aussi un rôle indirect en activant des protéases endogènes de latrônée ; la protéase alcaline dégrade également l'interféron gamma et les protéines du système compensatoire.

III-2-4- *Listeria monocytogenes*

III-2-4-1- Morphologie :

Listeria spp. est un petit bacille à Gram positif, régulier, non sporulant, de 0,4 à 0,5 Mm de diamètre sur 0,5 à 2 Mm de longueur, aux extrémités arrondies, quelques cellules peuvent être incurvées. Les cellules sont isolées ou regroupées en courtes chaînes, elles font parfois des angles V entre elles, non acido- alcool résistants, non capsulées, aérobies anaérobies facultatifs. Peu ou pas mobiles à 37° C, *Listeria* est toujours mobile à 22- 25° C. Cette particularité est un caractère important dans le diagnostic bactériologique. La ciliature est de type péritriche, avec un nombre de flagelles compris entre 1-5 et la mobilité est caractéristique car la bactérie semble tourner sur elle-même. Cette mobilité à 22° C permet également de différencier *Listeria* des bactéries immobiles comme *Erysipelothrix* et la plupart des *Corynebacterium* (Euzéby, 2000; Rocourt, 2000; Larpent, 2004).

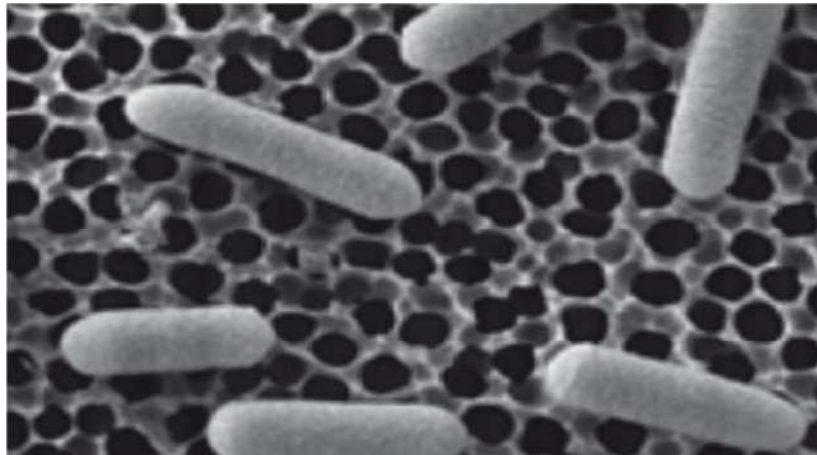


Figure 11: *Listeria monocytogenes* (Euzéby., 2005).

III-2-4-2- Position taxonomique :

L. monocytogenes (initialement appelée *Bacterium monocytogenes*) a été décrite en premier en 1926 à Cambridge, Angleterre, comme étant la cause d'infection à monocytose, au laboratoire rodents (Murray, 1926). L'année suivante, Pirie isolat lui aussi une bactérie à Gram positif, en Afrique du sud, à partir de gerbils sauvages infectés et proposa le nom de *Listeria* pour le genre en honneur au chirurgien "Lord Lister".

Murray et Pirie réalisèrent qu'ils ont procédé à l'isolement de la même espèce bactérienne et ainsi ils combinèrent les noms pour former *Listeria monocytogenes*. Celui-ci a dû être changé pour des raisons de taxonomie en *Listeria monocytogenes* (Pirie, 1940).

La classification hiérarchique du genre *Listeria* basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN16S est représentée sur la figure suivante:

Position systématique :

Empire : Procaryote.

Domaine : Eubactéria.

Phylum : Firmucutes.

Classe : Bacilli.

Ordre : Bacillales.

Famille : Listeriaceae.

Genre : *Listeria*.

Espèce : *Monocytogenes*.

I- Matériel

I-1 Matériel végétal

Le matériel végétal comprend la partie aérienne (tige, feuilles et fleurs) de quatre espèces *Artemisia herba-Alba* Asso, *Lavandula stoechas* L., *Myrtus communis* L. et *Thymus algeriensis* (Boiss. & Reut.) Murb.. Le lieu et la date de récolte de chaque espèce sont illustrés.

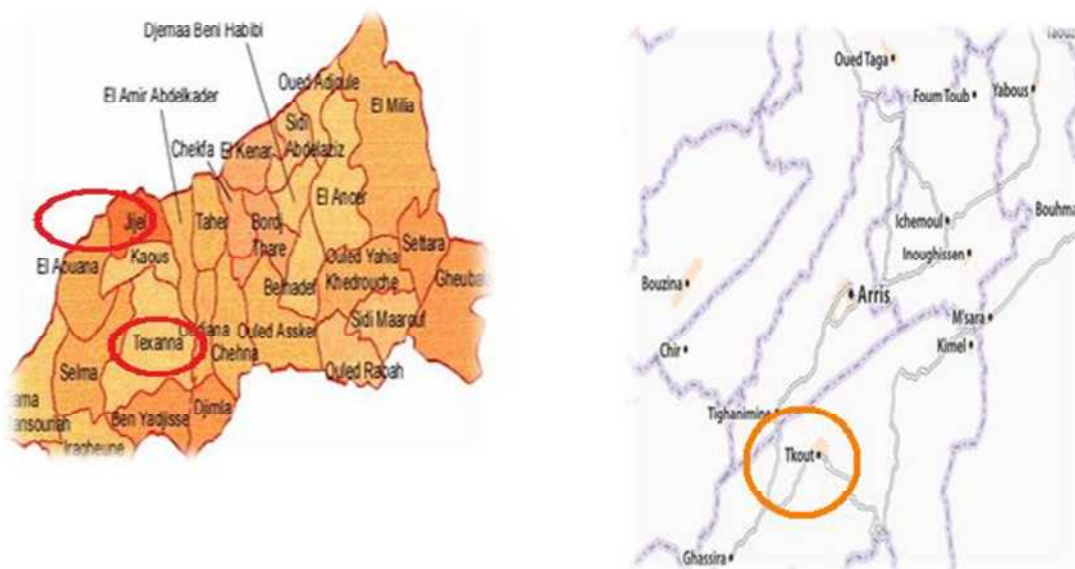


Figure 12: Localités des espèces échantillonnées.

Tableau 1 : Lieux et dates d'échantillonnage.

Espèce	Région	Date de récolte	La partie utilisée
<i>Artemisia herba-alba</i>	T'kout-Batna	Avril 2017	La partie aérienne
<i>Myrtus communis</i>	Texena-Jijel	Septembre 2015	La partie aérienne
<i>Thymus algeriensis</i>	T'kout-Batna	Avril 20-17	La partie aérienne
<i>Lavandula stoechas</i>	Androu-Jijel	Fin Mars 2017	La partie aérienne

L'identification des espèces a été faite par Dr. Zeraib A. maître de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abbes Laghrour, Khenchela.

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

I-2- Les souches bactériennes testés

L'activité antibactérienne des huiles essentielles des quatre espèces a été réalisée en utilisant quatre souches bactériennes de référence : deux bactéries à Gram positive, les souches de *Staphylococcus aureus* subsp (*S. aureus* ATCC25923), *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes* ATCC 19111), deux bactéries à Gram négative, *Escherichia coli* (*E. coli* ATCC 21332), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa* ATCC 25922). Leur croissance est réalisée à 37 C° sur gélose Mueller – Hinton Agar (MHA).

Les antibiotiques

Les disques d'antibiotiques utilisés pour les essais de diffusion par disque, sont la Pénicilline G (10µg/disque), Oxacilline (5 µg/ disque), Streptomycine (10 µg / disque), Vancomycine (30 µg / disque).

I-3- Réactifs chimique et instrumentation

a- Réactif

Méthanol, eau physiologique, eau distillée, gélose nutritive, Mueller- Hinton, papier filtre.

b- Instruments et Appareillage

Tubes à essai, Anse de platine, Bec bunsen, Boites de pétri, Ecouvillons, Micropipette, Pince, Autoclave 120 C°, Etuve électrique à37°C, Réfrigérateur, Bain marine, Vortex, Ballon, Chauffe ballon, Ballon, Clevenger.

II- Méthodes

II-1- l'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles à partir de la partie aérienne de quatre espèces : *Artemisia herba-alba*, *Lavandula stoechas*, *Myrtus communis*, *Thymus algeriensis* a été réalisé par la méthode d'hydro distillation par entraînement à la vapeur d'eau (**fig. 13**).



Figure 13 : Montage de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau.

La distillation a été réalisée par ébullition pendant 3 h de 1,5 L d'eau distillée met dans un ballon de 2 L surmonté d'une verrerie contient 300 g de matériel végétal séché et coupé en petit morceaux, puis un cleverger qui composé d'une colonne reliée à un réfrigérant. La vapeur d'eau entraine les molécules volatiles qui se condensent dans le tube réfrigérant et le mélange huile-eau recueilli dans une petite colonne à décanter liée au réfrigérant dans laquelle le mélange se sépare en deux phases non miscibles par la différence de leur densité. Une phase aqueuse (inferieure) et une phase huileuse (supérieure).

II-2- Méthodes microbiologiques

La technique utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'antibiogramme est celle de la diffusion sur gélose ou méthode des disques. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisé en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'huile essentielle ou des antibiotiques à testés, sur un milieu gélosé préalablement ensemencé et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas

pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle, est ainsi déterminé (fig. 14).

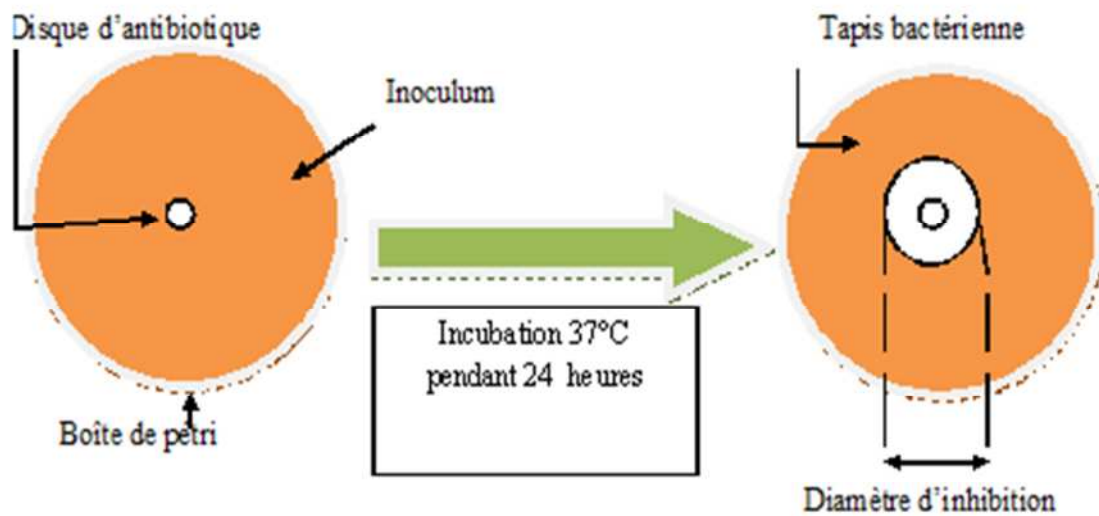


Figure 14 : Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque d'antibiotique.

II-2-1- Préparation de l'inoculum

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

Dans de l'eau physiologique stérile, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont déchargées. Après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, la standardisation à 10 UFC/ml a été réalisée en comparant leur turbidité avec celle de 0.5 de Mac Ferland préparé préalablement.

II-2-2- Mode opératoire

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

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

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

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

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

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

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

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

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

E_{he} : Effet antibactérien des huiles essentielles.

E_{ab} : Effet de l'antibiotique.

D : Diamètre du disque égale 6 mm.

Les interactions peuvent être classées comme suite :

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

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

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

Résultats et discussion

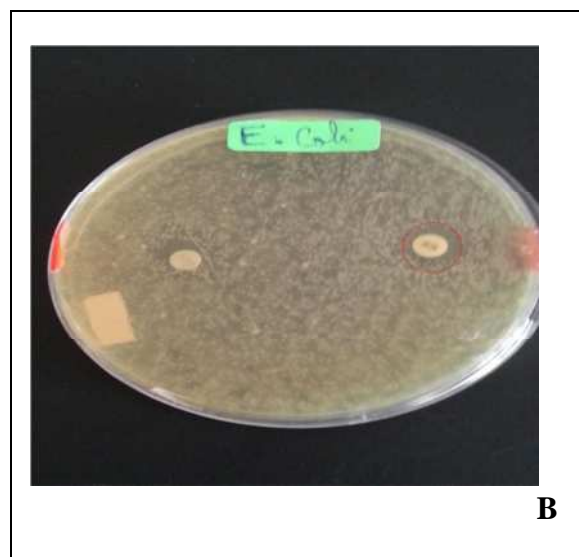
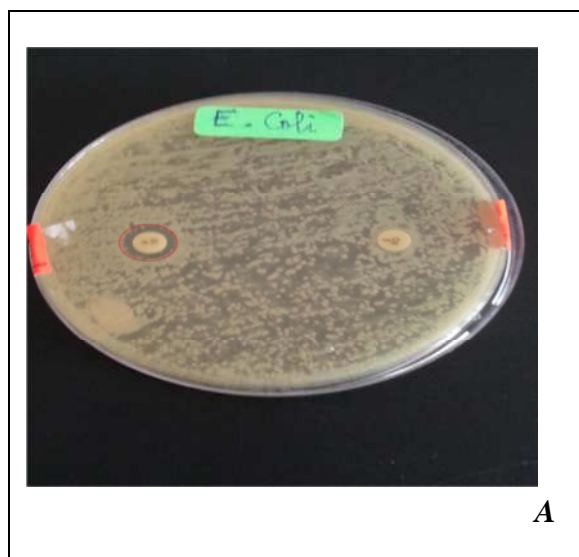
I- L'antibiogramme

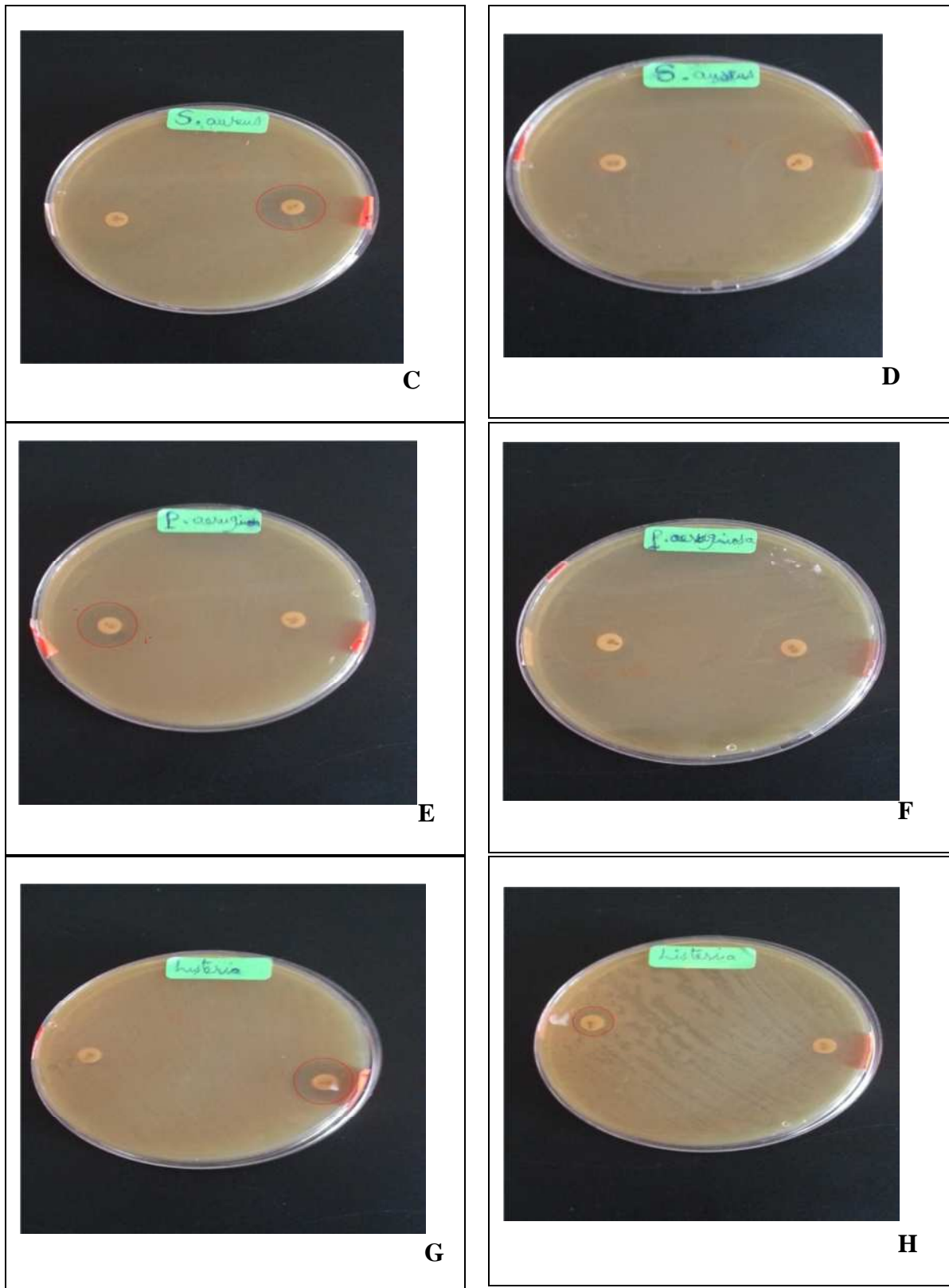
L'antibiogramme a été réalisé en testant quatre antibiotiques sur quatre souches bactériennes de référence (American Type Culture Collection), en utilisant la méthode de diffusion sur gélose. Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes; il s'agit de deux bactéries Gram négatives (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) et deux bactéries Gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*). Le pouvoir antibactérien de ces antibiotiques est déterminé selon le diamètre de halo d'inhibition : les résultats sont présentés ci-dessous (**Tableau 2, fig. 15**)

Tableau 2: Résultats de l'antibiogramme des quatre antibiotiques testés sur quatre souches bactériennes.

Antibiotiques	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>L.monocytogenes</i>
	M±ET	M±ET	M±ET	
Pénicilline	16±0	11±0	17±0	16±0
Oxacilline	6±0	6±0	6±0	6±0
Streptomycine	6±0	11±0	6±0	9±1
Vancomycine	6±0	6±0	6±0	6±0

M : la moyenne ; **ET** : l'écart-type.





A : Sensibilité d'*E.coli* vis-à-vis de la pénicilline et oxacilline.

B : Sensibilité d'*E.coli* vis-à-vis de la streptomycine et vancomycine.

C : Sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis de la pénicilline et oxacilline.

D : Sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis de la streptomycine et vancomycine.

E : Sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis de la pénicilline et oxacilline

F : Sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis de la streptomycine et vancomycine

G : Sensibilité de *L. monocytogenes* vis-à-vis de la pénicilline et oxacilline.

H : Sensibilité de *L. monocytogenes* vis-à-vis de la streptomycine et vancomycine.

Figure 15: Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis des quatre antibiotiques : Pénicilline, Oxacilline, streptomycine et vancomycine.

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

Selon nos résultats, la pénicilline a une bonne activité inhibitrice vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées, avec un diamètre d'inhibition allant de 11 mm (*E. coli*) à 17 mm (*P. aeruginosa*). Par contre pour la vancomycine et l'oxacilline qui n'ont aucune activité vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées. Une zone d'inhibition de 11 mm et de 9 mm a été observé autour des disques de Streptomycine avec l'*E. Coli* et *L.monocytogenes* respectivement (Boiss et al., 2013) ont rapporté que *Listeria monocytogenes* manifeste une résistance naturelle à l'oxacilline. De même, ont signalé la résistance naturelle de l'*E. coli* vis-à-vis de la vancomycine (Gutmann et al., 2013).

II- L'aromatogramme

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

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

Les résultats du pouvoir antibactérien des huiles essentielles testées sont récapitulés dans le **tableau 3**

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* a une activité antibactérienne variable contre toutes les souches testées, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 6 mm chez *E. coli* à 18 mm observé chez *P.aeruginosa*. Cette activité peut être attribuée à la présence de quelques monoterpènes tel que: le camphre, 1,8-

cinéole et le thuyone dans l'huile essentielle de cette espèce (**Jalsenjak et al., 1987; Sivropoulou et al., 1997**)

Tableau 3 : Résultats de L'aromatogramme des quatre huiles essentielles testés sur quatre souches bactériennes

Antibiotiques	<i>E. coli</i>		<i>S.aureus</i>		<i>P.aeruginosa</i>		<i>L.monocytogenes</i>	
	M±ET		M±ET		M±ET		M±ET	
<i>A. herba-alba</i>	6±0	-	17±1	++	18±0	++	12±2	+
<i>L. steochas</i>	16±0	++	17±1	++	11±1	+	11±1	+
<i>M. communis</i>	6±0	-	11±1	+	11±1	+	12±0	+
<i>Th. algeriensis</i>	6±0	-	6±0	-	10±0	+	6±0	-

HE=huile essentielle, **M**= moyenne, **ET**=ecartype, (+)= sensible, (-)= non sensible, (++)= très sensible

Plusieurs auteurs ont confirmé l'efficacité des huiles essentielles extraites de cette espèce vis-à-vis d'*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *L. monocytogenes* (**Yashphe et al., 1978 ; Imelouane et al., 2010 ; Lakehal et al., 2016**).

Une bonne activité de l'huile essentielle extraite de la partie aérienne de *Lavandula steochas* a été enregistrée vis-à-vis de toutes les souches testées. La zone d'inhibition la plus faible a été observée dans les boîtes ensemencées par les souches *P. aeruginosa* et *L. monocytogenes* avec un diamètre de 11 mm et la zone la grande est observée dans les boîtes ensemencées par *S. aureus* avec un diamètre de 17 mm. Cette forte activité est documentée dans plusieurs travaux à savoir : (**Kirmi zibekmez et al., 2009; Alami et al., 2015; Sadani et Shakeri ., 2016**).

Les souches bactériennes : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *L. monocytogenes* sont sensibles à l'huile essentielle extraite des feuilles de *Myrtus communis*. Ce qui est confirmé dans les travaux de (**Zomorodian et al., 2013; Ben Ghnaya et al., 2013 ; Touaiba ., 2015**).

Cette activité peut être attribuée à la présence de 1,8-cinéole avec un pourcentage élevé (**Jalsenjak et al., 1987; Sivropoulou et al., 1997**).

Les souches bactériennes testées sont révélées résistantes à l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*, à l'exception de *P.aeruginosa* qui manifeste une sensibilité envers cette huile. Contrairement à ce qui a été rapporté par Ait-Ouazzou *et al.* (2011) où les huiles de la même espèce se sont révélées actives contre les bactéries.

D'une manière générale, en raison de leur caractère lipophile, les constituants des huiles essentielles se lient aux membranes cellulaires des microorganismes. Ils inhibent notamment les échanges d'électrons membranaires lors des phosphorylations oxydatives et freinent ainsi le métabolisme énergétique. De fortes concentrations en huiles essentielles conduisent également à la lyse membranaire et à la dénaturation des protéines cytoplasmiques (Tenscher *et al.*, 2005).

III- L'effet du test de la combinaison

Le test de la combinaison a été effectué en combinant les huiles essentielles avec les quatre antibiotiques. Les résultats de ce test sont récapitulés dans le tableau ci-dessous et illustrés dans la **figure 16**

Tableau 4 : Résultats de combinaison AB+HE.

Bactérie	Espèce végétale	antibiotiques	ZI	EC	Effet
<i>E. coli</i>	<i>A. herba-alba</i>	Pénicilline	36	0,15	Syn
		Oxacilline	36	0	Syn
		Streptomycine	11	0	Syn
		Vancomycine	9	0	Syn
	<i>L. steochas</i>	Pénicilline	26	0,25	Syn
		Oxacilline	6	PZI	Ant
		Streptomycine	15	0	Syn
		Vancomycine	8	0	Syn
	<i>M. communis</i>	Pénicilline	13	1,23	Ant
		Oxacilline	15	0	Syn
		Streptomycine	12	0,83	Syn

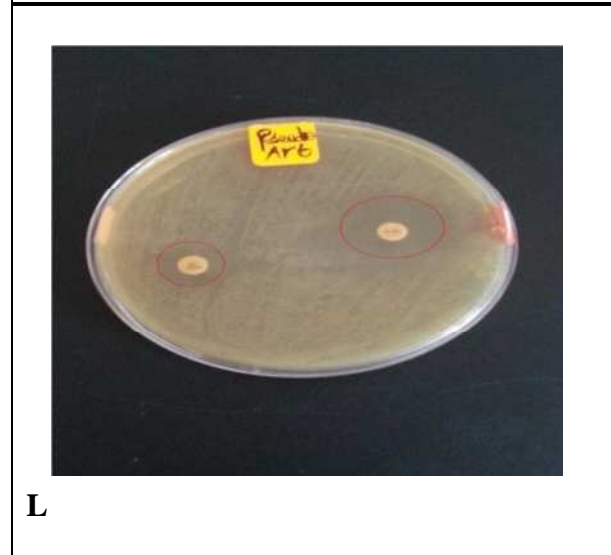
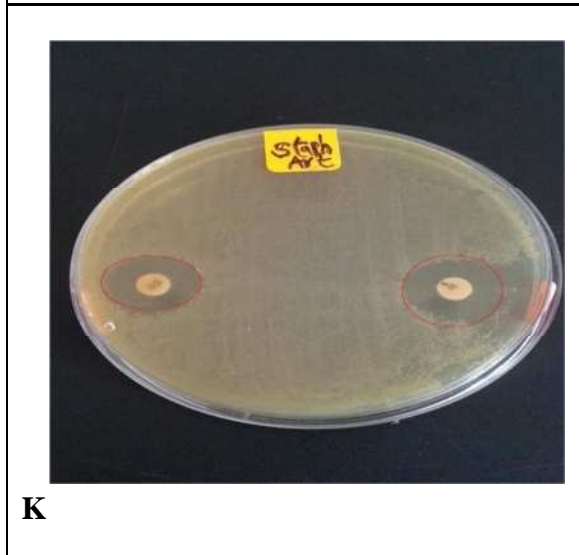
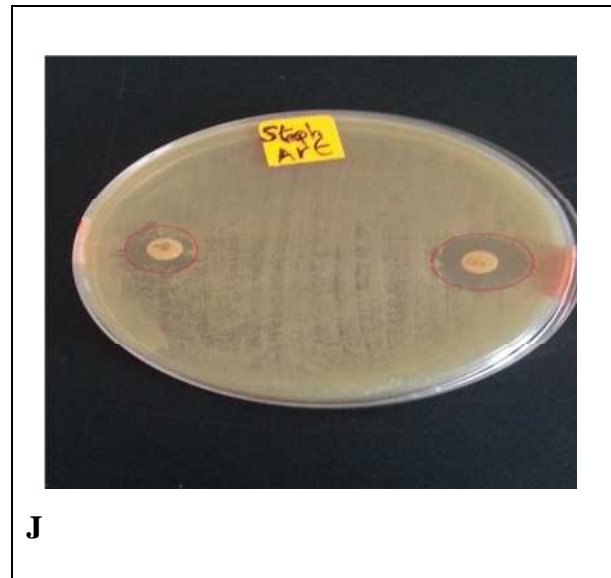
		Vancomycine	12	0	Syn
	<i>Th. algeriensis</i>	Pénicilline	13	1,23	Ant
		Oxacilline	11	0	Syn
		Streptomycine			
		Vancomycine	12	0	Syn
<i>S. aureus</i>	<i>A. herba-alba</i>	Pénicilline	19	0,84	Syn
		Oxacilline	17	0	Syn
		Streptomycine	19	0	Syn
		Vancomycine	19	0	Syn
	<i>L. steochas</i>	Pénicilline	10	6,16	Ant
		Oxacilline	11	5,5	Ant
		Streptomycine	8	5,5	Ant
		Vancomycine	8	2,82	Ant
	<i>M. communis</i>	Pénicilline	13	2,15	Ant
		Oxacilline	13	0	Syn
		Streptomycine			
		Vancomycine	12	0,17	Syn
	<i>Th. algeriensis</i>	Pénicilline	6	1,23	Ant
		Oxacilline	6	0	Syn
		Streptomycine	6	PZI	Ant
		Vancomycine	6	0	Syn
<i>P. aeruginosa</i>	<i>A. herba-alba</i>	Pénicilline	26	1,15	Ant
		Oxacilline	16	1,5	Ant
		Streptomycine	12	2	Ant
		Vancomycine	14	1,2	Ant

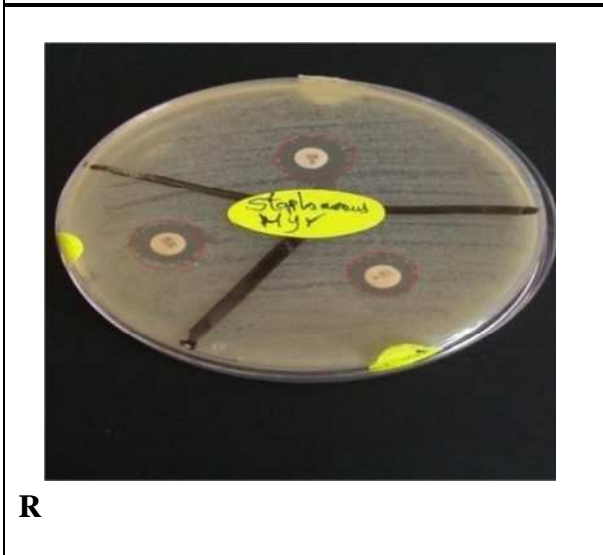
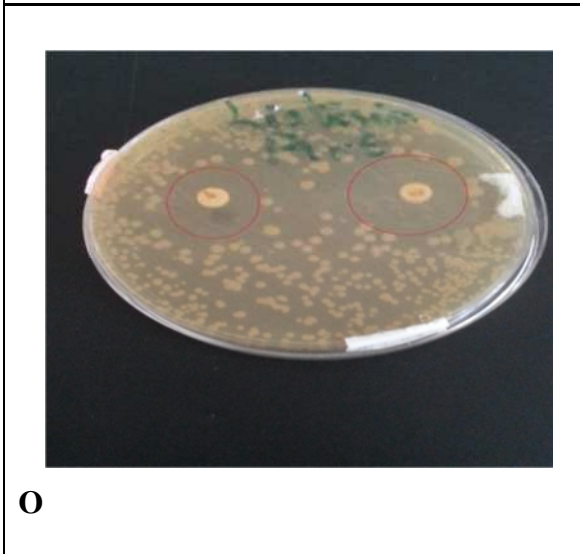
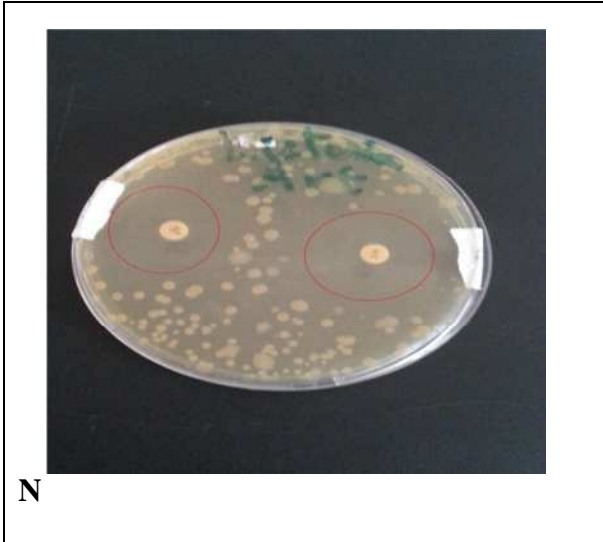
	<i>L. steochas</i>	Pénicilline	6	PZI	Ant
		Oxacilline	6	PZI	Ant
		Streptomycine	6	PZI	Ant
		Vancomycine	6	PZI	Ant
	<i>M. communis</i>	Pénicilline	23,5	0,28	Syn
		Oxacilline	9	0	Syn
		Streptomycine			
		Vancomycine	8	0,5	Syn
	<i>Th. algeriensis</i>	Pénicilline	11	3,1	Ant
		Oxacilline	12	0,66	Syn
		Streptomycine			
		Vancomycine	10	1	Add
<i>L. monocytogenes</i>	<i>A. herba-alba</i>	Pénicilline	37	0,75	Syn
		Oxacilline	6	2,16	Ant
		Streptomycine	31	0,44	Syn
		Vancomycine	30	1,5	Ant
	<i>L. steochas</i>	Pénicilline	18	1,24	Ant
		Oxacilline	14	0,62	Syn
		Streptomycine	16	0	Syn
		Vancomycine	14	0,62	Syn
	<i>M. communis</i>	Pénicilline	12	1,3	Ant
		Oxacilline	9	0	Syn
		Streptomycine			
		Vancomycine	10	0	Syn
	<i>Th. algeriensis</i>	Pénicilline	13	2,5	Ant

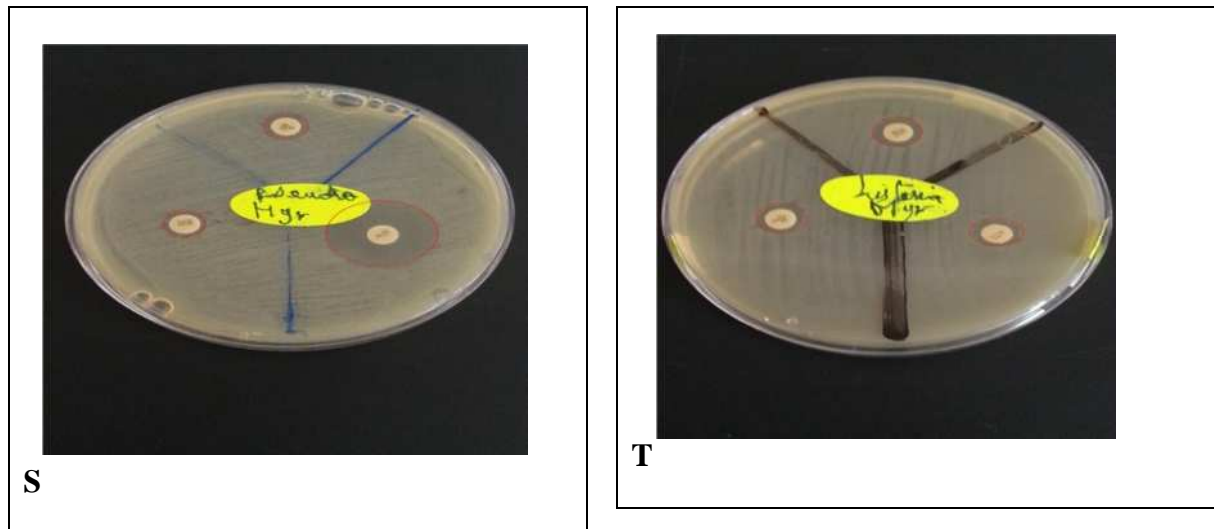
		Oxacilline	11	0	Syn
		Streptomycine			
		Vancomycine	12	0	Syn

ZI : zone d'inhibition ; **EC** : l'effet de la combinaison.

Ant= effet antagoniste, **Add**= effet additif, **Syn**= effet synergique, **PZI** = pas de zone d'inhibition, **NT**= non testé.







I : Sensibilité d'*E.coli* vis-à-vis combinaison entre *A. herba alba* et pénicilline, oxacilline.

J : Sensibilité de *S.aureus* vis-à-vis combinaison entre *A. herba alba* et pénicilline, oxacilline.

K : Sensibilité de *S.aureus* vis-à-vis combinaison entre *A. herba alba* et streptomycine, vancomycine.

L : Sensibilité de *P.aeruginosa* vis-à-vis combinaison entre *A. herba alba* et pénicilline , oxacilline.

M : Sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis combinaison entre *A. herba alba* et streptomycine, vancomycine.

N : Sensibilité de *L. monocytogenes* vis-à-vis combinaison entre *A. herba alba* et pénicilline , oxacilline.

O : Sensibilité de *L. monocytogenes* vis-à-vis combinaison entre *A. herba alba* et streptomycine, vancomycine.

P : Sensibilité d'*E.coli* vis-à-vis combinaison entre *M. comminus* L et pénicilline , oxacilline.

Q : Sensibilité d'*E.coli* vis-à-vis combinaison entre *M. comminus* L et streptomycine, vancomycine.

R : Sensibilité de *S.aureus* vis-à-vis combinaison entre *M. comminus* L et pénicilline, oxacilline et vancomycine.

S : Sensibilité de *P. aeruginosa* vis-à-vis combinaison entre *M. comminus* L et pénicilline, oxacilline et vancomycine.

T : Sensibilité de *L. monocytogenes* vis-à-vis combinaison entre *M. communis* L et pénicilline, oxacilline et vancomycine.

Figure 16 : Photos illustrant la sensibilité des souches bactériennes testées vis-à-vis la combinaison des HES avec les antibiotiques.

L'effet de la combinaison des huiles essentielles testées avec les quatre antibiotiques se diffère entre addition, synergique et antagoniste (Mandalari et al., 2007).

La combinaison de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* avec tous les antibiotiques a un effet synergique vis-à-vis de l'*E. coli*, et *S.aureus*, et en combinaison avec la pénicilline et la streptomycine vis-à-vis de *L.monocytogenes*. Tandis que la combinaison de cette huile avec l'oxacilline et le vancomycine vis-à-vis *L.monocytogenes* et sa combinaison avec tous les antibiotiques testés vis-à-vis *P. aeruginosa* ont donné un effet antagoniste.

L'effet antagoniste a été observé aussi en combinant les huiles de *Thymus algeriensis* avec la pénicilline contre toutes les souches testées et sur *S. aureus* en combinant cette huile avec tous les antibiotiques.

De même, la combinaison de l'huile de *M. communis* avec la pénicilline a un effet antagoniste vis-à-vis de *E. coli*, *S. aureus* et *L.monocytogenes*. Cependant, elle a donné un effet synergique avec *P.aeruginosa*, et en la combinant avec l'Oxacilline et le vancomycine vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées.

La combinaison des huiles essentielles de *L. steochas* avec les antibiotiques a donné un effet antagoniste à l'exception de la combinaison avec la pénicilline, Streptomycine et le Vancomycine vis-à-vis de *E.coli* et la combinaison avec l'oxacilline, Streptomycine et la Vancomycine vis-à-vis de *L.monocytogenes* qui a donné un effet synergique.

La variabilité de l'effet de la combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques, peuvent être dues à la composition des huiles essentielles et celle des antibiotiques et leurs effet entre eux (Rhayour, 2002; Fadli et al.,2012; khadir., 2013).

Conclusion

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antibactériens des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales Algériennes, seules et en combinaison avec les antibiotiques. Ces huiles essentielles sont extraites de quatre espèces à savoir : *Artemisia herba-alba*, *Lavandula stoechas*, *Thymus algeriensis* et *Myrtus communis* par hydrodistillation (entraînement à la vapeur d'eau).

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

Les huiles essentielles testées montrent une activité biologique intéressante sur toutes les souches testées à l'exception de l'*Escherichia coli* qui a manifesté une résistance vis-à-vis des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Thymus algeriensis* et *Myrtus communis*. Et *Staphylococcus aureus*, et *Listeria monocytogenes* vis-à-vis de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*.

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

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

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

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

Akoua Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé 2004). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles, P 62.

Archambaud. M., (2009). Laboratoire bactériologie-hygiène .chu rangueil toulouse. P 23, 24, 33,34.

Baba Aissa., (1999). Dictionnaire plantes et champignons 2ème edition estern , paris , France, 202.

Bakkali F., Averbeck S. et Idaomar M. (2012)., Taj Karimi (2011). Biological effects of essential oils in Antioxidant and antibacterial effects of Lavandula and Mentha essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O 157 : H7 and *S.aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. Meat Science, 92, 667- 674.

Barboni, T., (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p26.

Belhadi et Ayat., 2011.L'otite moyenne chronique ; Diplôme supérieur en Microbiologie université de Kasdi Merbah Ouargla PP 18-32

Ben Ghnaya A., Chograni H., Messoud Ch., Boussaid M., (2013), Comparative chemicalComposition and Antibacterial Activities of *Myrtuscommunis* L. Essential Oils Isolated from Tunisian and Algerian Population. J Plant PatholMicrob 2013, 4:7.

Benegouta., (2005). Analyse critique des méthodes de recherche, de dénombrement et d'identification des *Listeria* en industries agro- alimentaire. In "analyse critique des méthodesde recherche, de dénombrement et d'identification des microorganismes dans les I.A.A.". Compte- rendu des conférences prononcées à l'occasion du séminaire CPCIA d'octobre 1990.Paris, APRIA. p. 55- 76.

Boudjelal a., 2013- extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajugaiva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubiumvulgare*) de la région de M'Sila, Algérie.thèse doctorat: Biochimie Appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar,61p.

Boulahbal F., Hechniche F. Z. et Bougassa N. R. Manuel de microbiologie , les antibiotiques, 2^{ème} addition , pp93.

- Bourrel C. (1993).** Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extrait de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.
- Bruneton J. (1999)** .Pharmacognosie «Phytochimie Plantes » Médicinales 3^{ème} Ed, Tec et doc, Paris- P 484-540.
- Bussereau ., (2007).** Plant médicinales du monde-Croyances et Réalités.Ed ESTEM, Paris.645.
- Burt S. (2004).** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-A review .International journal of food microbiology, 94, 223-253.
- Carson C. F., Mee B. J. et Riley T. V. (2002).** Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined par time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy, Antimicrob. Agents Chemother, 46, 1914-1920.
- C. Lilet; J Bourdon ; B Toma ; N Marchal et C. Balbastre (1983) ;** Bactériologie médicale et vétérinaire- systématique bactérienne ; Edition DOIN. PP 150-190.
- Delquis P. J., stanich k., Girard B., Mazza G. (2002).** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. Int. J. Food Microbiol. 74 : 101-109.
- Euzéby J. P. (2004).** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.
- Euzéby J. P. (2005).** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.
- Euzéby J. P. (2011).** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.
- Farber J. M., Peterkin P. I. (1991).** *Listeria monocytogenes*. a food- borne pathogen. *Microbiol Rev.* **55**: 476- 511.
- Figarella A, chaieb C, ferjani E., (2004).** Caractérisation de la variabilité du comportement phytologique de certaines populations d'artemisia herba- alba du sud tunisien.cihema.vol. (62):211- 216p.
- Gaudy .C et Buxeraud .J ,2005.** Antibiotiques: pharmacologie et thérapeutique, ELSEVIER, Paris .P 14,23, 24
- Gay. A., (2005).** Liquorice treatment of peptic ulcer .journal of food chemistry 56, p150-160.

Gharabi z. Sand rl ., 2008-artemisia herba alba asso. A guide to medicinal plants in north africa :49-49.

Ghazi et Sahraoui., (2014). Essai de synthèse d'un conjugué acide gallique- inuline et étude *in vitro* de leurs activités anti-oxydante et prébiotique.. Mémoire de magister.Université Mouloud Mammeri- Tizi-ouzou..

Gherbu., (1988). Linseed. Publications and Information Division, Indian Council of Agricultural Research, (1987), New Delhi. 386 p.

Giray, e. s., kırıcı, s. et al., (2008). Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of Lavandula stoechas. Talanta **74**, 930-935.

Girre L., (2001). Les plantes et les médicaments. Paris : Delachaux et Niestle, 253p.

Grimonte P . A. D. (1987). Taxnomie des Escherichia coli. Médecine et maladies infectieuses, 6-10.

Heywood, V.H. (1996). Flowering Plants of the World. 3th edition, Oxford University Press, Oxford, pp. 141-145, 149-152.

Hodek P., Trefil P., Stiborova M., (2002). Flavonoids -potent and biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico- Biologica Interactions*. 139: 1-21.

Hornok,J., 1992. Cultivation and processing of medicinal plants. Budapest: Akademiai Kiado.

Kalembe D. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med . Chem, 10, 813-829

Kaper J. B., Nataro J. P., Mobley H. L . (2004). Pathogenic Escherichia coli . Nature Rev . Microbiol-2 : 123-140.

Khireddine. H ., (2013). Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie.thèse Magistère : Technologie Alimentaire. WEPIERRE J. 1981- Abrégé de pharmacologie générale et moléculaire. Ed.Masson, Paris.203p.

Kimbrais A. C., Siatis N. G., Daferera D. J., Tarantilis P. A., Pappas C. S., Polissiou M. G. (2006). Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction

methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*) .
Ultrason Sonochem. 13 : 54-60.

L’Afssaps., (2008). *Listeria*. 3ème édition. Technique et documentation. Londres- Paris-New York. Lavoisier. ISBN: 2- 7430-065769. 227 p.

Lakehal S., Meliani A., Benmimoune S., Bensouna SN, Benrebiha FZ Chaouia C., 2016, Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of *Artemisia herba-*

Laurent. F., (2009) .Principales β -lactamines : Pénicillines G, A, M, inhibiteurs de β - lactamases, Uréidopénicillines, Carboxypénicillines C1G, C2G, C3G, Monobactames Carbapénèmes. Groupement Hospitalier Nord Lyon. P 8.

Madigan. M et Martinko . J ,2007. Biologie de Micro-organismes. Université Carbondale de l’Illinois du sud .11e édition. P 702,705, 711,860, 862.

Messai L., 2011-étude phytochimique d’une plante medicinale de l’est algerien (*artemisia herba alba*).thèse Doctorat : Chimie Organique. Constantine : université de Mentouri.104p

Mouton G., Bennett R.N. , Bisignano G ., Trombetta D., Saija A. ,fauldus C.B . , Gasson M.j.et Narbad A. (2000).antimicrobial activity of flavoids extracted from borgamot (*Citus Bergamia* Risso) peel,a by product from the essential industry .J.Appl. Microbial, 103, 2056,2064.

Muthu H. C., Giamarellou H., (2006). Community aquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections . Int. J. Antimicrob. Agent . 27 : 87-96.

Nickaver N. B., Normak S. (2000). Evolution and spread of antibiotic resistance. J. Intern . Med . 252 : 91-106.

Perry S. J., Remaut H., Buelens F., Miller E., Aberg V., Pemberton N., Hedenstrom M., Larsson A., Seed P., Waksman G., Hultgren S. J., Almqvist F. (2002). Rationally designed small compounds inhibit pilus biogenesis in uropathgenic bacteria . Proc . Natl. Acad. Sci . 103 : 17897-17902.

Pfallert P., Hansel R., Keller K., Rimpler H., Schneider G., Andhrsg. (1988). *Artemisia*.In Hagers Handbuchder Pharmazeutischen Praxis.Springer- Verlag, Berlin, 357-377 p.

Pirie J. H. H. (1940). *Listeria*. Change of name for a genus of bacteria. Nature. **145.** p. 264.

Pottier G., 1981-Artemisiaherba-alba. Flore de la Tunisie: angiospermes-dicotylédonesgamopétales. 1012p.

Prescott Harley. Klein(2003) ; Microbiologie, Edition française Paris, PP 1053 1054 1055 1056.

Santoyo S., Cavero S ., Jaime L., Ibanez E ., Senorans F. J ., Reglero G. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of rosmarinus officinalis L. Essential oil obtained via supercritical fluid extraction . J. Food prot .68 : 790-795.

Sing S. B., Barret J. F. (2006). Empirical antibacterial durg discovery – foundation in natural Products . Biochem . Pharmacol .71: 1006-1015.

Soto., Nikolaou, C., Papanikolaou, E.; Kokkini, S.; Lanaras T.; Arsenakis, M.(2010).Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of Salvia fruticosa essential oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, **1997**, **45**, 3197-3201.

Twajj Ha, AL-Badr A., 1988- Hypoglycaemic activity of Artemisia herba-alba.J Ethnopharmacol.vol. 24 (2-3):123–126.

Touaibia M., 2015, Antiicrobial activity of the essential oil of *Myrtuscommunis*L. berries growin wild in Algeria. J. Fundam. Appl. Sc. 7(2): 150-162.

Yakhlef., Naiba, Dr. M. Ouhssine, Pr. M. Chaouech, 2010,Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of LavandulaStoechas. International Journal of Engineering Research & Technology, 4 (02) : 1011-1014.

Yashphe J., Segal R., Breuer A., Erdreich-Naftali G., 1978, Antibacterial Activity of *Artemisia herba-alba*.Journal of Pharmaceutical Sciences, 68(7) : 924-925.

Résumé

L'objectif de cette contribution est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles seules et en combinaison avec les antibiotiques. Les huiles essentielles de quatre espèces, *Artemisia herba-alba*, *Lavandula steochas*, *Thymus algeriensis* et *Myrtuscommunis* sont été testées sur quatre souches bactériennes de référence: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Listeria monocytogenes*. Les résultats montrent que toutes les huiles essentielles testées manifestent une très bonne activité vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cependant, l'*Escherichia coli* a montré une résistance vis-à-vis les huiles *Artemisia herba-alba*, *Thymus algeriensis* et *Myrtuscommunis*. L'association des huiles essentielles avec les antibiotiques a montré un effet synergique et antagoniste.

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

الملخص

الهدف من هذه المساهمة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من الزيوت الأساسية وحده، وبالاشتراك مع المضادات الحيوية. اختبار الزيوت الأساسية الشيح، الحلحال، الزعتر الريحان، الزعتر على أربع سلالات بكتيرية مرجعية المكورات العنقودية الذهبية، بسيودوموناس إيروجينوسا، الإشريكية القولونية، المستوحدة الليستيريا وأظهرت النتائج أن جميع الزيوت الأساسية المختبرة تحمل نشاط مضاد للبكتيريا كبير وجها لوجه بسيودوموناس إيروجينوسا، المكورات العنقودية الذهبية، ومع ذلك الإشريكية القولونية تعرض مقاومة وجها لوجه مع الشيح، الحلحال، الزعتر، مزيج الزيوت الأساسية مع المضادات الحيوية أظهر تأثير متناغم وعدائي.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، المضادات الحيوية، النشاط المضاد للبكتيريا، التأثير المتناغم.

Abstract

The aim of this contribution is to evaluate the antibacterial activity of essential oils alone and in combination with antibiotics. Essential oils of four species, *Artemisia herba-alba*, *Lavandula steochas*, *Thymus algeriensis* and *Myrtus communis* were tested on four bacterial strains of references (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes*). The results show that all essential oils tested exhibit a very good activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. However, the *Escherichia coli* show resistance against the *Artemisia herba-alba*, *Thymus algeriensis* and *Myrtus communis* oils. The combination of essential oils with antibiotics showed a synergistic and antagonist effects.

Keywords: essential oils, antibiotic, antibacterial activity, synergy.