

Popular Democratic Republic of Algeria  
Ministry Of High Education and Scientific Research  
Abbes Laghrour University, Khenchela  
Faculty of Natural and Life Sciences  
Department Of Molecular and Cellular Biology



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
جامعة عباس لغرور خنشلة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

## Mémoire MASTER ACADEMIQUE

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Microbiologie Appliquée

**Présenté par**

DIB Riham

DJEHICHE Dounia

BOUSSAMA Kawther

### Thème

*Etude de l'activité antibactérienne de  
quelques huiles essentielles et l'effet de leur  
association avec les antibiotiques*

*Devant le jury :*

<b>Président :</b>	HANOUN Saida	M.C.B	Université de Khenchela
<b>Examineur :</b>	BENREDJEM Lamia	M.A.A	Université de Khenchela
<b>Encadreur :</b>	BERTELLA Anis	M.C.B	Université de Khenchela

*Année universitaire 2021-2022*

## *Remerciements*

*« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage ».*

*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.*

*On tient à remercier fortement **Dr. HANOUN Saida** Qui nous a honorés en acceptant de président le jury.*

*On n'oublie pas d'exprimer nos sincères remerciements **Dr. BENREDJEM Lamia** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*On tient à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à **Dr. BERTELLA Anis** qui nous a fait grand honneur d'encadrer ce travail. Nous vous prions de bien vouloir recevoir le témoignage de notre profond respect.*

*Nos vifs remerciements vont à tout le staff du laboratoire de l'Université Abbés Laghrour Khenchela « El Hamma », sous la direction de madame **CHORFI** et surtout **SARA** pour la fourniture de tous les moyens et conditions appropriés pour bien réaliser ce travail.*

*Nous remercions ceux et celles qui nous ont aidés d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.*

## Dédicaces

*Je dédie ce travail :*

*A mon père expatrié Saïd, absent de mes yeux, présent dans mon cœur. Qui a sacrifié son bonheur pour nous donner une vie décente, qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour ses conseils et ses encouragements. Il mérite un sentiment d'amour plus profond.*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ; ma mère FAOUZIA qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*A mon deuxième père, mon cher oncle Abdallah.*

*A mes frères, la source de mon bonheur Abdelmadjid et Yousef .*

*A ma belle sœur Hanine .*

*A ma grand-mère Warda et mes tantes Nawel et Leïla, Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour leur soutien et encouragements.*

*A ma belle amie d'enfance Marwa qui a toujours illuminé mon enfance rose et m'a laissé de précieux souvenirs que je chérirai toujours et que je remercierai pour cela.*

*A mes amies Soundes, Amel, Khadouma et Douda, Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.*

*A mes collègues, Dounia et Kawther, pour leur soutien, patience et compréhension tout au long de ce projet.*

## Riham

## **Dédicaces**

*Je dédie ce travail :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère Rouba, qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*A mon cher père Saddek, qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.*

*À mes chères frères Anisse et Achraf en reconnaissance de leur affection toujours constante.*

*Aux anges de la maison : Joud, Rassim abde alillah, Jouri Tessnim, Qusai rahmane et Abderrahmane.*

*A mes meilleures amies Elbahdja et Aya*

*Je n'oublie pas mes collègues Riham et Kawther dans ce travail pour l'étendue de la compréhension, de la coopération et du bon soutien.*

*A toutes les personnes qui me connaissent de loin ou de près.*

**Dounia**

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*A mon père, Aucun dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. En hommage à tous les sacrifices que tu as consenti pour moi durant mes longues années d'étude. Je te remercie d'avoir fait de moi ce que je suis maintenant et de m'avoir appris de vivre dans l'honneur et dans la dignité.*

*Aucune dédicace, Aucun mot ne pourrait exprimer réellement ta juste valeur. Chaque ligne de ce mémoire, Chaque mot et chaque lettre t'exprime la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être toujours avec moi .quoique je fasse, Je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Ma lumière de mes jours, ma source de mes efforts, ma vie et mon bonheur, ma Chère Maman je t'adore.*

*A l'amour familial Créé Par :*

*Mes chers frères : Hamza , Ramzi , Najmo, Khaled et Houdhaifa*

*A mes sœurs : Fadwa et Masarra*

*A mes merveilleuses copines: Amina, Riham , Loubna et Anissa.*

*A mes collègues : Riham et Dounia et toutes leur familles Dib et Djehiche, merci pour votre soutien et vos encouragements.*

*A toute ma famille et mes merveilleuses cousines sans exception, que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.*

*A toutes mes copines et mes amies que j'ai connu depuis l'enfance jusqu'à ce jour.*

***Kawther***

## **Résumé**

L'objectif de ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite à partir de la plante d'*Eucalyptus globulus* collectée dans la région de Batna et ainsi de rechercher d'éventuels effets synergiques avec certains antibiotiques et ceci sur des souches résistantes aux antibiotiques isolées de prélèvements cliniques à savoir *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*. L'extraction de l'HE a été assurée par l'Hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Le rendement en huile essentielle est de 1,84%.

Trois méthodes sont adoptées pour l'évaluation de l'effet antibactérien des huiles essentielles seules et en combinaison avec les antibiotiques qui sont: la méthode de diffusion sur disque, la méthode Microatmosphère et la méthode de microdilution.

Les résultats de la méthode de diffusion sur disque ont révélé que ces huiles sont actives sur les souches testées avec des zones d'inhibition variant de 11,5 à 42,5 mm de diamètre.

Les valeurs de CMI et CMB ont montré que notre huile possède un effet inhibiteur vis-à-vis certaines souches et bactéricide sur certaines autres. Les plus faibles concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de 1,71 et 2,43 mg/ml respectivement étaient remarquées pour la souche *E. coli* (EC A1).

Quatre types d'interactions sont observés lors de l'association HE/ATBs (Antagoniste, synergique, additif et indifférents).

**Mots clés :** Activité antibactérienne, Huile essentielle, *Eucalyptus globulus*, Association HE/ATBs.

## **Abstract**

The aim of this work is to study the antibacterial activity of essential oil extracted from the plant of *Eucalyptus globulus* collected in the Batna region and to search for possible synergistic effects with some antibiotics on antibiotic-resistant strains isolated from clinical samples, namely *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*. The extraction of EO was carried by Hydrodistillation using a Clevenger type device. The yield of essential oil is 1.84%.

Three methods are adopted for the evaluation of the antibacterial effect of essential oils alone and in combination with antibiotics, which are: the disc diffusion method, the Microatmosphere method and the microdilution method.

The results of the disc diffusion method obtained revealed that these oils are active on the strains tested with a diameter of inhibition zone varying from 11.5 to 42.5 mm. The values of MIC and CMB have shown that our oil has an inhibitory effect on some strains and bactericidal effect on some others. The low minimum inhibitory and bactericidal concentrations of 1.71 and 2.43 mg/ml respectively were noticed for the *E. coli* strain (*EC AI*).

Four types of interactions are observed during the EO/ATBs association (Antagonistic, synergistic, additive and indifferent).

**Key words:** Antibacterial activity, Essential oil, *Eucalyptus globulus*, EO/ATBs association.

## ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري المستخرج من نبات

*Eucalyptus globulus*.

الذي تم جمعه في منطقة باتنة والتحقيق في الآثار التآزرية المحتملة مع بعض المضادات الحيوية على السلالات المقاومة للمضادات الحيوية المعزولة من العينات السريرية وهي: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

تم ضمان استخراج الزيت الأساسية بواسطة التقطير المائي باستخدام جهاز من نوع Clevenger العائد من الزيت العطري هو 1.84.

تم اعتماد طريقتين لتقييم التأثير المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية وحدها وبالاشتراك مع المضادات الحيوية وهي تقنية الانتشار بالأقراص، تقنية التخفيف الدقيق وتقنية Microatmosphère.

وفقا لنتائج طريقة نشر القرص التي تم الحصول عليها اكتشفنا أن هذه الزيوت نشطة على السلالات التي تم اختبارها مع مناطق تثبيط تتراوح قطرها من 11.5 إلى 42.5 ملم. أظهرت قيم CMI و CMB ان الزيت له تأثير مثبط تجاه بعض السلالات وقاتل على البعض الآخر. ولوحظ انخفاض الحد الأدنى من التركيزات المثبطة والقاتلة البالغة 1.71 و 2.43 ملغم/مل على التوالي بالنسبة لسلالة *Escherichia coli* (EC A1).

لوحظت أربعة أنواع من التفاعل أثناء الجمع بين الزيت و المضادات الحيوية (Antagoniste, synergique, additif et indifférents).

**الكلمات المفتاحية:** نشاط مضاد للبكتيريا زيت اساسي، *Eucalyptus globulus*، مزيج الزيوت الأساسية/ المضادات الحيوية .

### *Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre du tableau</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	La structure de la paroi des bactéries Gram Négatif et Gram Positif	04
<b>02</b>	Mode d'action des principales classes d'antibiotique	09
<b>03</b>	Systématique de l'espèce <i>Eucalyptus globulus</i>	16
<b>04</b>	La composition chimique des huiles essentielles	26
<b>05</b>	Liste des souches bactérienne testées	32
<b>06</b>	Rendement de huile essentielle <i>Eucalyptus globulus</i>	46
<b>07</b>	Diamètres des zones d'inhibition par méthodes d'aromatogramme	47
<b>08</b>	le degré de sensibilité bactérienne en fonction de diamètre des zones d'inhibitions	48
<b>09</b>	Diamètres des zones d'inhibition par méthodes d'antibiogramme	49
<b>10</b>	Diamètres des zones d'inhibition par méthodes de micro atmosphère	52
<b>11</b>	Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) d'HE	54
<b>12</b>	Tableau récapitulatif des résultats de CMI et CMB d'ATB	57
<b>13</b>	Diamètres des zones d'inhibition des bactéries testées vis-à-vis d'effet d'association d'HE aux ATBs	58

## *Liste des figures*

N°	Titre de la figure	Page
<b>01</b>	Morphologie microscopique des bactéries	03
<b>02</b>	Schéma représentant l'historique de la découverte des antibiotiques	06
<b>03</b>	Mode d'action des antibiotiques	07
<b>04</b>	les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries	10
<b>05</b>	différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie à Gram négatif	12
<b>06</b>	principe de l'antibiogramme par diffusion	13
<b>07</b>	Photographie de l' <i>Eucalyptus globulus</i> en zone résidentielle	17
<b>08</b>	Montage d'entraînement à la vapeur d'eau	19
<b>09</b>	Montage d'extraction par hydrodistillation simple	20
<b>10</b>	Montage d'extraction par hydro diffusion	21
<b>11</b>	Technique d'extraction par solvants	21
<b>12</b>	Extraction par Co2	22
<b>13</b>	Extraction par micro-ondes	23
<b>14</b>	Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau microbien	28
<b>15</b>	La zone d'échantillonnage de la plante eucalyptus globulus	31
<b>16</b>	photographie de la plante <i>Eucalyptus globulus</i>	31
<b>17</b>	Le montage de l'Hydrodistillation de type Clevenger	33
<b>18</b>	Repiquage des souches bactéries	34
<b>19</b>	Préparation de la suspension bactérienne	35
<b>20</b>	La technique d'ensemencement par écouvillonnage	36
<b>21</b>	principe de la méthode de diffusion par disque	37

<b>22</b>	le principe d'antibiogramme	38
<b>23</b>	méthode de Micro atmosphère	39
<b>24</b>	principe de la préparation des dilutions d'HE	40
<b>25</b>	La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	42
<b>26</b>	principe de la méthode des disques (l'association d'HE et ATB)	44
<b>27</b>	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne de chaque souche testée.	47
<b>28</b>	Résultats de l'aromatogramme par la méthode de diffusion sur disques	49
<b>29</b>	Diamètres des zones d'inhibition de trois d'antibiotiques de chaque souche testé	50
<b>30</b>	Les zones d'inhibition par méthode de diffusion sur disques	51
<b>31</b>	histogramme des diamètres des zones d'inhibition de la croissance	52
<b>32</b>	Les Zones d'inhibition par la méthode de micro-atmosphère	53
<b>33</b>	Lecture de la CMI de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur les souches bactériennes testées.	54
<b>34</b>	la CMI de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur les souches bactériennes testées	55
<b>35</b>	le lecteur de CMB d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur les souches bactériennes testées	56
<b>36</b>	Histogramme de la CMB d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur les souches bactériennes testées	56
<b>37</b>	Effet d'association d'HE <i>Eucalyptus globulus</i> aux ATBs sur la croissance de bactéries testées	58
<b>38</b>	Histogramme de diamètres des zones d'inhibitions d'association d'HE <i>Eucalyptus globulus</i> aux ATBs sur la croissance de bactéries testées	59

## *Symboles et abréviations*

% : pourcent

[C]: concentration

± : Plus ou moins

°C: degré Celsius

ADN : Acide désoxyribonucléase

AMP : Ampinax

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : acide ribonucléique messenger

ARNt : Acide ribonucléique de transfert

ATB : Antibiotique

ATP : Adénosine triphosphate

AUG : Augmentin

BN : les bouillons nutritifs

Cm : centimètre

CMB: Concentration Minimale Bactéricide

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CO<sub>2</sub> : dioxyde de carbone

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

DHF : dihydrofolate

D : Diamètre

DHP: dihydroptéroate

E. coli : *Escherichia coli*.

g : gramme

GEN : Gentamicine

GN : Gélose Nutritive

HE: Huile Essentielle

HSV-1: Virus herpes simplex 1

HSV-2: Virus herpes simplex 2

J.C: Jésus christ

KP : *Klebsiella pneumoniae*

L: litre

LPS : lipopolysaccharide

Max : maximum

mg: milligramme

MH : Mueller Hinton

MHB : Bouillon Muller Hinton

MHE : masse d'huile essentielle obtenue

Min : minute

ml: millilitre

Mm: millimètre

MPE : masse de la plante sèche traitée

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : Sulfate de Sodium anhydride

R : Résistante

RHE : rendement en huile essentielle

S : Sensible

SA : *Staphylococcus aureus*

SB : suspension bactérienne

SM: Spectrométrie de Masse

T : Témoin

THF: tétrahydrofolate

TTC : Chlorure de triphényltétrazolium

UFC: Unité Formant Colonie

μl : Microlitr

# *Table des matières*

*Liste des tableaux*

*Liste des figures*

*Symboles et abréviations*

*Introduction* .....01

## *Partie théorique : Revue bibliographique*

### *Chapitre 01: Généralité sur les bactéries et les antibiotiques*

1. Généralités sur Les bactéries	
1.1. La découverte du monde microbien	03
1.2. La morphologie et la structure des bactéries	03
1.3. Généralités sur les infections bactériennes	05
2. Les antibiotiques	
2.1. Définition	05
2.2. Historique	05
2.3. Les types des antibiotiques	06
a. les antibiotiques naturels (par fermentation)	06
b. Les antibiotiques synthétiques	07
2.4. Mécanisme d'action des antibiotiques	07
1. Inhibition de la synthèse de paroi bactérienne	08
2. Inhibition de la synthèse des protéines	08
3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	08
a. Les antibiotiques qui ciblent l'ARN	08
b. Les antibiotiques qui ciblent l'ADN	08
2.5. La Classification des antibiotiques	08
2.6. La résistance aux antibiotiques	09
2.6.1. Les différents types de résistances	10
a. La résistance naturelle	10
b. La résistance acquise	10
2.6.2. Les mécanismes biochimiques de résistance	11
a. L'inactivation enzymatique de l'antibiotique	11
b. La modification des cibles	11

c. Diminution de la concentration intracellulaire en antibiotiques .....	11
- Accessibilité réduite de la cible .....	12
- Les systèmes d'efflux bactérienne .....	12
2.7. La sensibilité aux antibiotiques .....	12
a. Les méthodes directes mesurent la Concentration Minimale Inhibitrice (C.M.I.).....	13
b. Une méthode indirecte, la méthode de diffusion en gélose, ou méthode des disques .....	13
c. Antibiogramme automatisé .....	14

## *Chapitre 02 : Les huiles essentielles*

1. La monographie de la plante.....	15
1.1. Présentation .....	15
1.2. Noms vernaculaires .....	15
1.3 Propriétés .....	15
1.4. Descriptions botaniques .....	15
1.5. Systématique .....	16
1.6. Habitat et répartition géographique .....	16
1.7. Utilisation traditionnelles .....	16
1.8. Toxicité .....	17
2. Historique .....	18
3. Définition et généralités sur les huiles essentielles .....	18
4. Caractéristiques et propriétés physicochimiques.....	18
5. Extraction des huiles essentielles .....	19
5.1. Entraînement à la vapeur d'eau .....	19
5.2. Hydro-distillation simple (ou Hydro- distillation de type Clevenger) .....	20
5.3. Distillation à vapeur saturée (Vapo Hydro distillation) .....	20
5.4. Hydro diffusion .....	20
5.5. Expression mécanique à froid .....	21
5.6. Enfleurage .....	21
5.7. Extraction par les solvants .....	21
5.8. Extraction par le CO2 supercritique .....	22
5.9. Extraction par les corps gras .....	22

5.10. Extraction par micro-ondes .....	22
5.11. Extraction par les gaz supercritiques .....	23
6. Analyses des huiles essentielles .....	23
6.1. Chromatographie en phase gazeuse .....	23
6.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie De masse (CPG/ SM) .....	23
7. Activité biologique des huiles essentielles .....	24
a. Activité antimicrobienne .....	24
a.1. Activité antibactérienne .....	24
a.2. Activité antivirale .....	24
a.3. Activité antifongique .....	24
b. Activité antioxydant .....	25
c. Activité anticancéreuse .....	25
d. Activité anti-inflammatoire .....	25
8. La composition chimique des huiles essentielles .....	25
9. La facteur influençant la composition des huiles essentielles .....	26
a. Facteurs intrinsèques .....	26
b. Facteurs extrinsèques .....	27
10. Les types des microorganismes .....	27
11. Mode d'action des huiles essentielles .....	28
12. Domaine d'utilisation des huiles essentielles .....	29
13. Toxicité des huiles essentielles .....	29
14. La synergie entre les huiles essentielles et les antibiotiques .....	29

## *Partie pratique*

### *Chapitre 01 : Matériel et méthodes*

1. Matériel végétal .....	31
2. Les souches bactériennes .....	32
3. Extraction d'huile essentielle .....	33
3.1. Détermination de rendement .....	34
4. Préparation les milieux de culture .....	34
5. Le repiquage des souches bactéries .....	36
6. Préparation de la suspension bactérienne .....	36
7. Méthode de diffusion sur disques (aromatogramme) .....	38
7.1. Préparation des disques .....	38
7.2. L'ensemencement .....	38
7.3. Dépôt de disque .....	39
8. L'antibiogramme .....	40
9. Méthode de micro-atmosphère .....	40
10. Méthodes des micro-dilutions en milieu liquide .....	41
10.1. Préparation des dilutions d'HE et d'ATB .....	41
10.1.1. Préparation des dilutions d'HE .....	41
10.1.2. Préparation des dilutions d'ATB .....	43
a. Les dilutions de l'ampicilline.....	43
b. Les dilutions de la Gentamicine .....	43
c. Les dilutions d'Augmentin .....	43
10.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice d'Huile essentielle et des antibiotiques .....	43
10.3. La détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) .....	44
11. Etude de l'association « d'HE Eucalyptus globulus / Antibiotiques » par la méthode des disques .....	45

## *Chapitre 02 : Résultats et Discussion*

1. Résultats et interprétations .....	46
1.1 Rendement.....	46
1.2. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) .....	46
1.3. Résultats de l'antibiogramme.....	49
1.4. Méthode de micro-atmosphère .....	52
1.5. Détermination de CMI et CMB .....	53
1.5.1. Détermination de CMI .....	53
1.5.2. Détermination de CMB .....	55
1.6. Détermination de CMI et CMB d'ATBs .....	57
1.7. Etude de l'association « HE/ATBs » par la méthode des disques .....	58
2. Discussion .....	60
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>65</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>66</b>
<b>Annexes</b>	

# *Introduction*

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'antibiotiques disponibles en thérapeutique médicale. Et cela cause un problème qui touche la santé publique, cette émergence de la résistance aux antibiotiques, est due à l'utilisation massive et parfois abusive de ces derniers (**Billerbeck, 2007**). Alors toutes ces conséquences ont conduit à une forte demande de nouveaux antibiotiques actifs contre les germes pathogènes (**Fisher, 2008**).

Il est donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et de trouver des solutions alternatives, notamment des médecines dites douces, basées sur les propriétés des plantes médicinales et notamment les huiles essentielles (**Ousson et al., 2010**).

Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans la prévention et le traitement de différentes maladies, soit en utilisant la plante entière ou ses principes actifs, tels que les huiles essentielles (HE). Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale utilise régulièrement des médicaments traditionnels pour répondre aux besoins de santé primaires (**Wang et al., 2020**). De nos jours, environ 3000 huiles essentielles sont produites et utilisées à travers le monde dans des domaines aussi variés que la cosmétique, la parfumerie, l'agro-alimentaire, la pharmacie, et l'aromathérapie (**Yoann, 2011**), elles sont l'un des métabolites les plus importants, auxquels les chercheurs se sont intéressés. Les HE sont des mélanges naturels, complexes et volatils, synthétisés par plusieurs espèces de plantes et elle sont connues par plusieurs propriétés biologiques intéressantes (**Bakkali et al., 2008**).

La combinaison des huiles essentielles avec une approche thérapeutique aux antibiotiques pourrait conduire à de nouvelles façons de traiter les maladies infectieuses (**Moussaoui et Alaoui, 2016**). En effet, les thérapies combinatoires peuvent être moins vulnérables au développement de la résistance aux médicaments et peuvent augmenter l'efficacité thérapeutique, leurs effets synergiques potentiels fournissent des pistes pharmacologiques plus larges et peut conduire à des toxicités plus faibles (**Khoury et al., 2019**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des produits antibactériens naturels en évaluant les propriétés antibactériennes de l'huile essentielle d'une plante médicinale largement distribuée en Algérie, il s'agit de l'*Eucalyptus globulus* et l'étude de l'association des antibiotiques et des huiles essentielles pour vérifier l'effet généré.

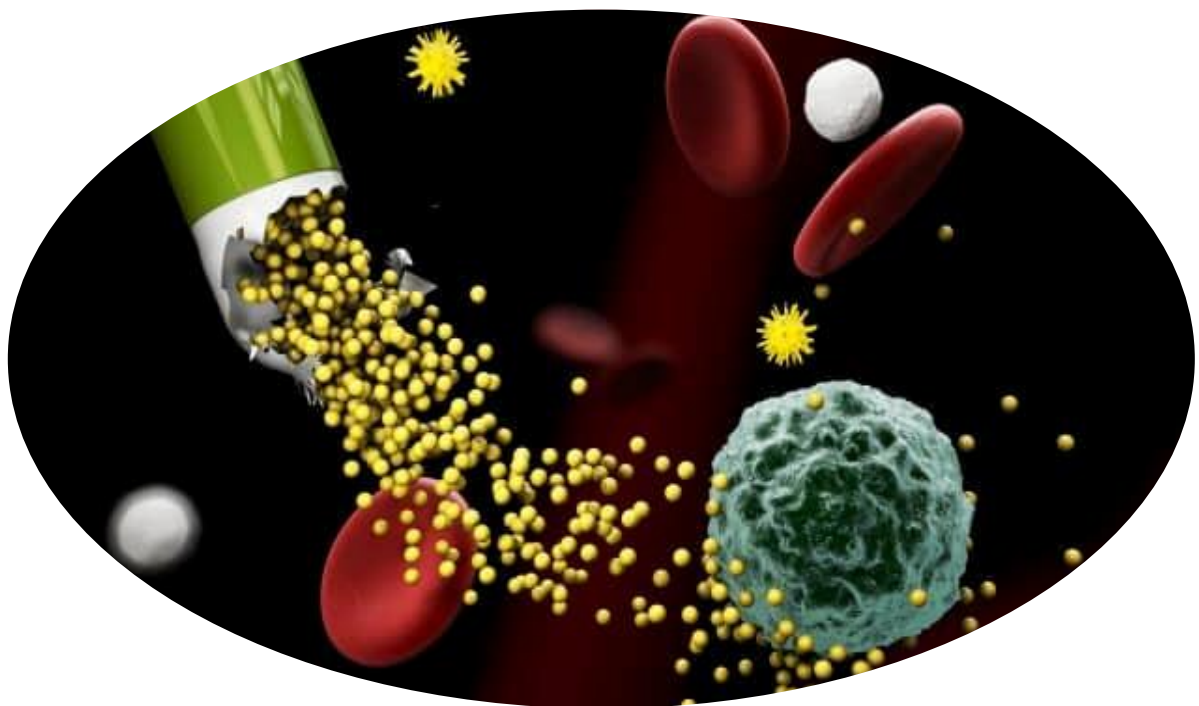
En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera deux parties. Dans une première partie, une revue bibliographique sera présentée en deux chapitres, le premier sur le monde bactérien, généralités sur les antibiotiques, la résistantes aux antibiotiques, alors que le deuxième est consacré à la description de l'espèce *Eucalyptus globulus* et des généralités sur les huiles essentielles.

La deuxième partie du manuscrit est réservée à la partie pratique, et comporte deux chapitres, le premier regroupe le matériel et les méthodes utilisés, notamment l'extraction des huiles essentielles et l'étude de leur activité antibactérienne et leur effet d'association aux antibiotiques. Alors que le deuxième, comporte les résultats obtenus, suivis d'une discussion.



# *Chapitre 1*

## *Bactéries et Antibiotiques*



## 1. Généralités sur les bactéries

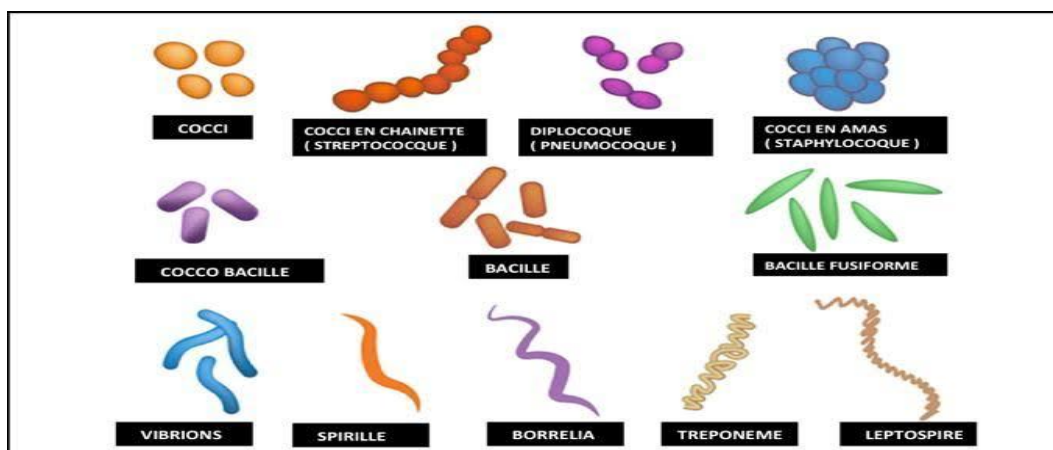
### 1.1. La découverte du monde microbien

Au cours des années 1670 et 1680, un marchand hollandais "Antoni van Leeuwenhoek" fut le premier à décrire l'existence d'organismes vivants invisibles à l'œil nu (micro-organismes). Depuis cette découverte, de très nombreux micro-organismes furent décrits et officiellement regroupés au 19<sup>e</sup> siècle sous le nom de protistes (protistos en grec) (**Leclerc et al., 1995**). Parmi les microorganismes essentiels présents dans notre planète, les bactéries qui sont des micro-organismes vivants microscopiques unicellulaires (procaryotes), présentes dans tous les biotopes terrestres. Ils sont symbiotiques dans toutes les créatures qui affectent le développement, en particulier l'immunité. Chez l'Homme les bactéries commensales constituent le microbiote et sont nécessaires et bénéfiques à notre organisme (**Anna et al., 2005**).

### 1.2. La morphologie et la structure des bactéries

Les bactéries, par leurs différentes particularités physiologiques, présentent une grande diversité de morphologie : forme sphérique (Coque), allongées ou bâtonnet (Bacille), incurvée (Vibrion), spiralée (Spirochètes), filamenteuse (Actinomycète) (**Figure 1**), alors que leur taille est de l'ordre de 0,2 à 10  $\mu\text{m}$  (**Foley et al., 2006**).

Les caractères morphologiques sont une stratégie d'adaptation et de survie, dans l'environnement aquatique ou tellurique, il existe des bactéries qui sont amorphes, ovoïdes, cubiques, étoilées, filamenteuses; elles peuvent être groupées en amas, en paires, et aussi en rosettes en réseau, en cubes, en corps fructifiant (**Figure1**) (**Leclerc et al., 1995**).



**Figure 1** : Morphologie microscopique des bactéries (**Leclerc et al., 1995**)

La structure de la paroi bactérienne (**Tableau 1**) permet de diviser les bactéries en deux groupes qui sont le groupe des bactéries Gram positif et le groupe des bactéries Gram négatif.

**Tableau 1:** la structure de la paroi des bactéries Gram Négatif et Gram positif  
(Leclerc *et al.*, 1995).

Gram (+)	Gram(-)
Peptidoglycane Membrane plasmique est similaire chez les deux classes de bactéries	
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Possèdent à l'extérieur de la membrane cytoplasmique une paroi constituée d'une épaisse couche de peptidoglycane associée à des acides échoïques.</li> <li>▪ Composée principalement de plusieurs couches de polymère de N-acétyl-glucosamine et d'acide N-acétylmuramique.</li> <li>▪ L'espace péri plasmique, quant à lui est beaucoup plus étroit</li> <li>▪ Présente le même rôle de stockage d'enzymes, de nutriments, de protéines, d'ions.</li> <li>▪ Colorées en violet après coloration de Gram.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Présentent une fine couche de peptidoglycane localisée dans le périplasme entre la membrane cytoplasmique et la membrane cellulaire externe.</li> <li>▪ La membrane externe est principalement composée de phospholipides organisés en bicouche (partie hydrophile à l'extérieur et partie lipophile à l'intérieur).</li> <li>▪ Contient aussi de nombreuses protéines intrinsèques, notamment les protéines de transport.</li> <li>▪ On retrouve des lipopolysaccharide (LPS) qui s'activent lors des processus de lyse cellulaire.</li> <li>▪ Colorées en rose lors de la coloration de Gram.</li> </ul>

### 1.3. Généralités sur les infections bactériennes

Les infections sont des maladies créées par des organismes qui colonisent notre corps, il y a 4 grandes familles de micro-organismes : les bactéries, les virus, les champignons et les parasites (**Berche et al., 1989**).

Les maladies bactériennes ou infections bactériennes sont causées par des bactéries nocives (également appelées agents pathogènes, agents étiologiques), qui pénètrent passivement ou activement dans un organisme végétal ou animal, dans lequel elles se reproduisent et provoquent une réponse immunitaire. De telles maladies sont souvent accompagnées, entre autres, d'inflammation, de fièvre, de vomissements et de diarrhées. Les antibiotiques et autres bactéricides (et certains biocides) sont utilisés dans leur traitement (**Khiati et al., 1998**).

## 2. Les antibiotiques

### 2.1. Définition

Les antibiotiques sont des substances d'origine naturelle, produites par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries), ou de synthèse chimique (**Prescott et al., 1995**). Qui à très faible concentration ont le pouvoir d'inhiber la croissance, voire de détruire des bactéries ou d'autres micro-organismes sans affecter l'hôte (**Khiati et al., 1998**).

### 2.2. Historique

Le mécanisme d'action des antibiotiques a été découvert accidentellement par Alexander Fleming en 1928 quand sa culture de bactéries avait été bloquée par la contamination d'un champignon, la pénicilline. Mais la production industrielle de la pénicilline ne débutera pas avant 1942 (**Messadié, 1995**).

La découverte des antibiotiques (**Figure 2**) a été une découverte médicale majeure qui a permis de sauver des millions de vies en traitant des infections qui étaient incurables telles la tuberculose, la pneumonie, la septicémie....., ces bénéfiques sont aujourd'hui menacés par le développement de résistances aux antibiotiques par plusieurs bactéries responsables d'infections (**Dedet, 2007; Coustes, 2016**).

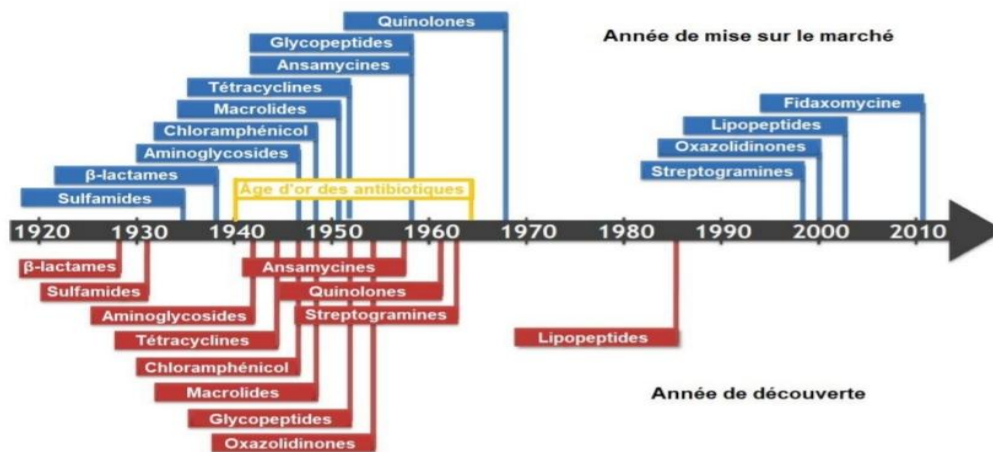


Figure 2 : Schéma représentant l'histoire de la découverte des antibiotiques (Dedet, 2007; Coustes, 2016).

### 2.3. Les types des antibiotiques

Les antibiotiques sont représentés principalement par des molécules naturelles et leurs dérivés. Ils peuvent également d'origine synthétique ou semi-synthétique. Les antibiotiques synthétiques gagnent en reproduisant des substances artificiellement dérivées ou des extraits d'origine microbienne. Les antibiotiques semi-synthétiques sont dérivés de modifications de micro-organismes, de laboratoires et de production de matériel (Guinoiseau, 2010).

#### a. Les antibiotiques naturels

Les antibiotiques sont des substances organiques secrétées comme des métabolites secondaires par certains microorganismes ou produits par synthèse chimique. Les microorganismes producteurs d'antibiotiques sont en nombre très restreint (Aouar, 2016).

- **Soit des champignons** inférieurs (mycètes): du genre *Penicillium* pour les Pénicillines, Griséofulvine et genre *Céfalosporium* pour les Céfalosporines (Mehdi, 2008).

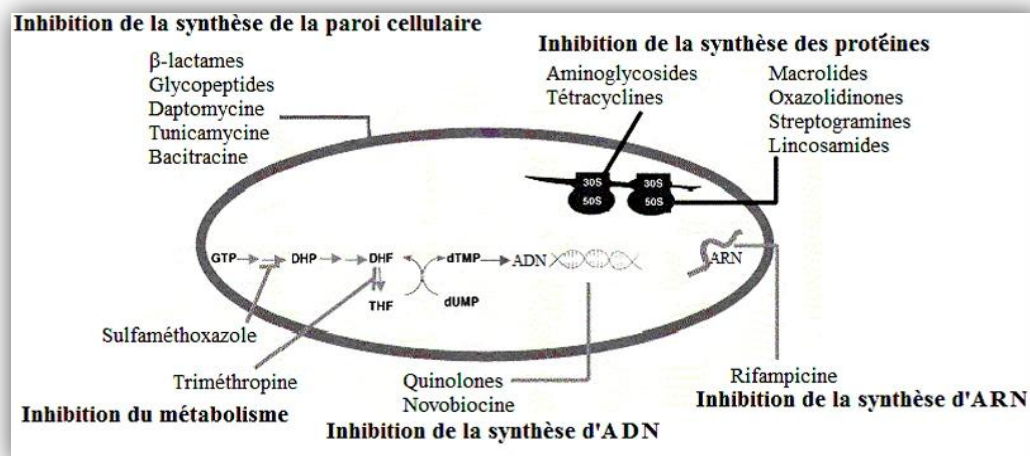
- **Soit des bactéries** : du genre *Streptomyces* (90 % des antibiotiques sont produits par des bactéries du genre *Streptomyces* et genre *Bacillus*). Comme antibiotiques dont l'origine est bactérienne on trouve, la Bacitracine, Polymyxine-Colistine, Mupirocine (Zeghilet, 2009). En outre la fermentation est le procédé le plus habituel pour les composés naturels, c'est aussi le premier stade de la préparation des antibiotiques de semi-synthèse (chebira, 2009).

## b. Les antibiotiques synthétiques

Certains antibiotiques dont la structure est assez simple sont produits plus économiquement par synthèse que par fermentation. C'est le cas du Florphénicol, Chloramphénicol, Mono-lactames, (Sahtouri et Yahia, 2019). Elles sont obtenus à partir de dérivés artificiels ou en reproduisant des substances obtenus à partir de micro-organismes (Gouari, 2020), et on distingue aussi des antibiotiques d'origine semi-synthétique, ils sont obtenus en modifiant en laboratoire une substance produite par un micro-organisme (Mehdi, 2008).

### 2.4. Mécanisme d'action des antibiotiques

Contrairement aux conservateurs et aux désinfectants, les antibiotiques sont généralement très spécifiques pour une structure particulière de cellules bactériennes. Cette action très spécifique explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à de très faibles concentrations, l'ordre du  $\mu\text{g.ml}$  sur les bactéries importantes de leur développement, comme la synthèse de leurs parois, leur ADN, la synthèse des protéines, production d'énergie. On peut schématiquement (Figure 3) regrouper les différentes familles d'antibiotiques autour de quatre mécanismes d'action principaux (Singh & Barrett, 2006).



**Figure 3 :** Mode d'action des antibiotiques (Singh & Barrett, 2006).

Avec DHP: dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF: tétrahydrofolate

## 1. Inhibition de la synthèse de paroi bactérienne

Certains ATBs affectant la synthèse d'un composant essentiel de la paroi bactérienne appelé le peptidoglycane en se fixant sur des enzymes appelées protéines de liaison à la pénicilline indispensables à la synthèse du peptidoglycane (**Labrousse., 2011**). Ces ATBs sont bactéricides et agissent seulement sur les bactéries en phase exponentielle de croissance, parmi ces ATBs on trouve la pénicilline et Bêta-lactamines (**Meyer et al., 2004**).

## 2. Inhibition de la synthèse des protéines

Il ya des ATBs qui inhibent la synthèse des protéines, en se fixant sur la sous -unité 50 S des ribosomes et empêchent la fixation du complexe acide aminé-ARNt sur ces ribosomes, donc la traduction est bloquée, parmi ces ATBs on trouve la famille des macrolides (**Meyer et al., 2004**), (**Maalem, 2019**).

## 3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques

### a. Les antibiotiques qui ciblent l'ARN

Ce mode d'action, on dénombre la famille des rifamycines, composée des rifamycines A, B, C, D, E, S et SV. Ces antibiotiques ont une structure chimique macrocyclique et sont isolés de *Streptomyces nordia mediterranei* (**Moroh, 2013**). En se liant à l'ARN polymérase, ces antibiotiques bloquent la formation de brins d'ARN messager, limitant ainsi la synthèse des protéines (**Tenstdt, 2010**).

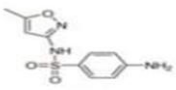
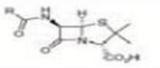
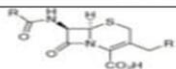
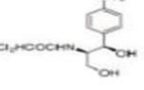
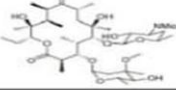
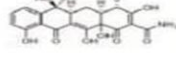
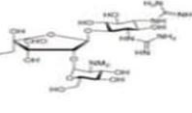

### b. Les antibiotiques qui ciblent l'ADN

Selon Plusieurs auteurs, les interactions entre ces antibiotiques avec l'ADN et les topo isomérase induisent la formation d'un complexe ternaire qui inhibe l'activité de l'enzyme impliquée dans cette réaction. (**Moroh, 2013**). Une cartographie de la structure chimique des quinolones qui met en évidence la relation structure-activité de ces antibiotiques a été donc établie (**Mitscher et al., 2003**; **Shen, 2003**).

## 2.5. La Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés en familles ou classes en fonction de leurs propriétés structurales. Elles peuvent être classés selon plusieurs critères (**Tableau 2**) : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (**Guinoiseau, 2010**).

**Tableau 2 :** Mode d'action des principales classes d'antibiotique (Guinoiseau, 2010).

Classe	Origine	Mode d'action	Exemple	Structures chimiques (Singh et Barrett, 2006)
Sulfamides	Synthétique	- Inhibent la synthèse de l'acide folique - Entraînent une diminution de la production	Sulfaméthoxazole	
$\beta$ -Lactames de 1 <sup>ère</sup> génération	<i>Penicillium notatum</i>	Inhibent la synthèse du peptidoglycane par blocage de la transpeptidation	Pénicilline	
$\beta$ -Lactames de 2 <sup>ème</sup> génération	<i>Cephalosporum</i>	Inhibent la synthèse du peptidoglycane par blocage de la transpeptidation	Céphalosporine	
Phénylpropanoïdes	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Se fixent sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome empêchant l'élongation du peptide au cours de la traduction	Chloramphénicol	
Macrolides	<i>Streptomyces erythraeus</i>	Se fixent sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome empêchant l'élongation du peptide au cours de la traduction	Erythromycine	
Tétracyclines	<i>Streptomyces</i>	Bloquent la traduction en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome	Tétracycline	
Aminoglycosides	<i>Streptomyces</i> ou <i>Micromonospora</i>	Se fixent sur la sous-unité 30S du ribosome et bloquent en partie la traduction en engendrant des erreurs de lecture	Streptomycine	
Quinolones et fluoroquinolones	Synthétique	Inhibent la gyrase bactérienne	Ciprofloxacine	

## 2.6. La résistance aux antibiotiques

Depuis leur découverte au début du XX<sup>ème</sup> siècle, les antibiotiques ont permis de grandes avancées en thérapeutique et ont contribué à l'essor de la médecine moderne. (El amri *et al.*, 2014), ils ont joué le rôle de sauver des millions de personnes chaque année, mais leur efficacité est menacée car les bactéries avec le temps, ont développé certaines formes de résistances vis-à-vis de la thérapie (Veysiere, 2019). Cette résistance est un facteur majeur de complication des traitements des infections bactériennes et la dissémination des souches multi-résistantes. Il faut distinguer la résistance innée ou naturelle, de la résistance acquise qui apparaisse chez des bactéries sensibles aux antibiotiques (Yala *et al.*, 2001).

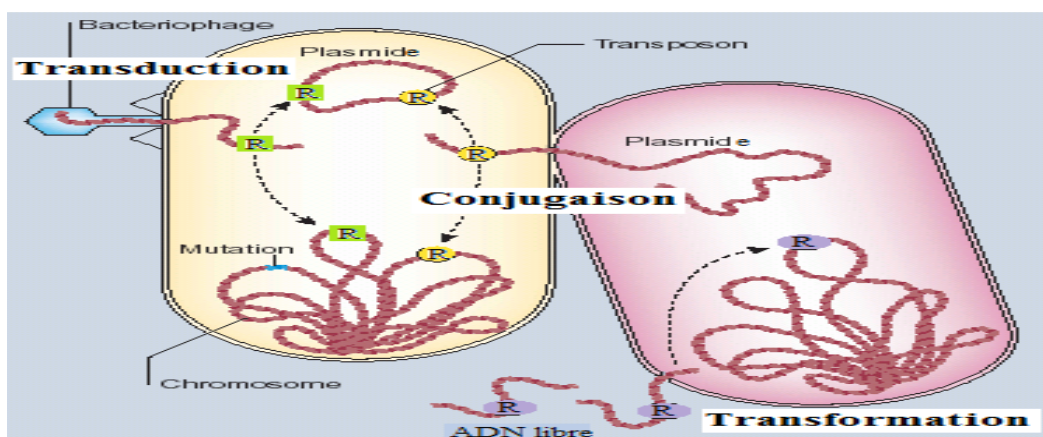
### 2.6.1. Les différents types de résistances

#### a. La résistance naturelle

Lorsque toutes les souches de la même espèce sont résistantes aux antibiotiques, nous parlons de la résistance naturelle. L'expression de la personnalité innée partagée par l'ensemble de la communauté bactérienne rend l'utilisation de certains antibiotiques inappropriée. Les propriétés structurales de la paroi cellulaire qui empêchent les antibiotiques d'atteindre leurs cibles, ainsi que le manque de cibles, sont toutes des variables qui influencent la nature de la résistance (Toure, 2015). La résistance naturelle est réfléchie et donc fiable pour élargir la portée des antibiotiques en modifiant leur structure chimique parce que les bactéries qui ont une résistance naturelle sont insensibles au fonctionnement d'un antibiotique (Veysiére, 2019).

#### b. La résistance acquise

Des mécanismes de résistance spécifiques peuvent être acquis par diverses modifications génétiques (Figure 4). L'acquisition de résistance est définie par un type spécifique de changement génotypique conduisant à un type spécifique de mécanisme de résistance. N'importe quel mécanisme de résistance spécifique peut souvent être acquis par de multiples types de changements génétiques. (Idan *et al.*, 2018). La transmission d'éléments génétiques mobiles, comme les plasmides et les transposons, favorise également l'acquisition des résistances par les bactéries. Elles peuvent s'effectuer par transduction, conjugaison ou transformation (Guinoiseau, 2010).



**Figure 4:** les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries (Levy & Marshall, 2004).

### 2.6.2- Les mécanismes biochimiques de résistance

Pour lutter contre l'action des antibiotiques, les bactéries ont le pouvoir d'adopter plusieurs stratégies. Certaines ciblent directement les antibiotiques tandis que d'autres sont dirigées contre les mécanismes cellulaires, impliqués dans le transport de ces substances (Guinoiseau, 2010).

#### a. L'inactivation enzymatique de l'antibiotique

Certaines bactéries synthétisent des enzymes qui inhibent l'action des antibiotiques en dégradant ou en modifiant ces derniers. La modification des antibiotiques peut se faire de différentes façons selon les réactions chimiques catalysées (l'acétylation, la glycosylation, la nucléotidylations, la substitution, la ribosylation et/ou la phosphorylation) (Bouyahya *et al.*, 2017). Après que l'enzyme modifie le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, il empêche la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité (Muylaert *et al.*, 2012).

#### b. La modification des cibles

Elle est la conséquence d'une mutation spontanée au niveau d'un gène bactérien ou de l'acquisition du gène de résistance, par conjugaison, transduction ou transformation. La modification de la cible de l'antibiotique; n'est plus question d'une modification du gène codant mais d'une modification covalente post- traductionnelle de la protéine cible ou d'une modification post-trascriptionnelle d'un ARN. Ceci aboutit au même résultat; et l'antibiotique interagit moins facilement ou plus du tout avec la cible modifiée (Seok *et al.*, 2007). Le remplacement de la cible de l'antibiotique est, quant à lui, un mécanisme décrit pour les sulfamidés, les diaminopyrimidines et les bêta-lactames (Zidouh, 2019).

#### c. Diminution de la concentration intracellulaire en antibiotiques

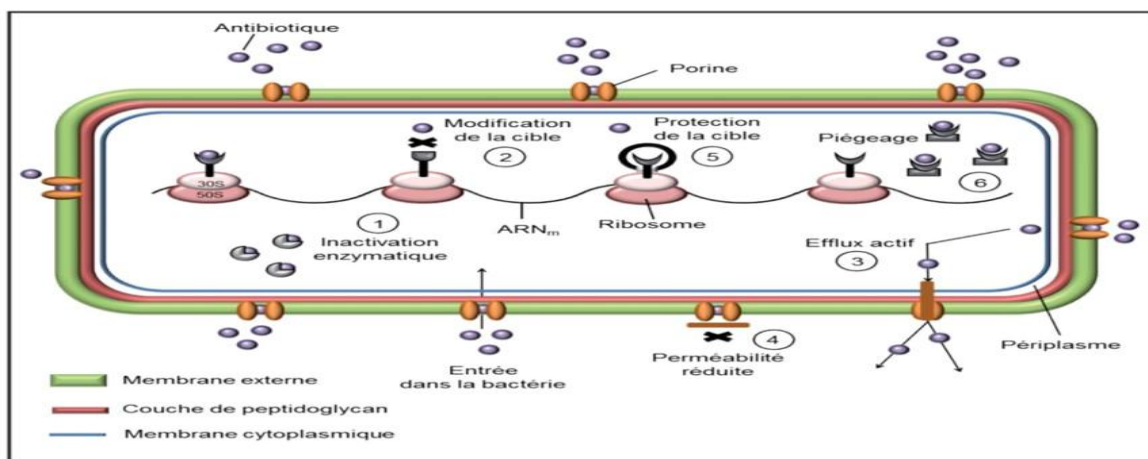
Les bactéries sont capables de se protéger des antibiotiques en réduisant leurs effets par diminution des concentrations intracellulaires. Pour cela, leur absorption dans les cellules peut être limitée par une modification de la perméabilité membranaire. Pour les antibiotiques ayant pénétré dans le milieu intracellulaire, une deuxième option est envisageable: leur prise en charge par les pompes d'efflux membranaires, qui assurent leur exportation active hors des cellules (Guinoiseau, 2010).

### - Accessibilité réduite de la cible

Les antibiotiques doivent atteindre leur cible pour fonctionner, et ils doivent franchir des barrières pour y parvenir, Ces dernières peuvent être des mécanismes de résistance efficaces. Les ATBs doivent traverser la membrane externe avant d'atteindre la membrane cytoplasmique des bactéries à gram négatif. Il a été rapporté qu'une réduction des porines contribue à la résistance à certains antibiotiques. Dans de nombreux cas, cette accessibilité réduite doit être associée à la production d'au moins une bêta-lactames modérément active pour obtenir des niveaux élevés de résistance aux bêta-lactamines (**Murray et al., 2009**). Des barrières à l'entrée peuvent également exister dans la membrane cytoplasmique. C'est le mouvement des aminoglycosides à travers la membrane cytoplasmique est un processus dépendant de l'oxygène, de sorte que ces antibiotiques sont inactifs dans les environnements anaérobies (**Rice et al., 2003**).

### - Les systèmes d'efflux bactérien

Les bactéries sont pourvues de systèmes qui leur permettent d'expulser dans le milieu extérieur des métabolites ou composés toxiques étrangers comme les antibiotiques (**Figure 5**). Cet efflux actif nécessite de l'énergie sous forme d'ATP, ou d'un gradient électrochimique transmembranaire, utilisé par des pompes à efflux ou transporteurs actifs qui réduisent la concentration intracellulaire de l'antibiotique en limitant l'accès à sa cible (**Gouari, 2021**).



**Figure 5:** différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie à Gram négatif (**Muylaert et al., 2012**).

**1**: inactivation enzymatique de l'antibiotique, **2** : modification de la cible de l'antibiotique, **3** : efflux actif de l'antibiotique, **4** : perméabilité réduite, **5** : protection de la cible de l'antibiotique, **6** : piégeage de l'antibiotique. **ARNm** : acide ribonucléique messager

## 2.7. La sensibilité aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité d'une bactérie à différents ATBs est réalisée par plusieurs méthodes, dont le coût et la facilité de mise en œuvre en routine vont grandement varier de l'une à l'autre, la technique de référence est celle de l'antibiogramme qui évalue l'inhibition de la croissance bactérienne (Veysié, 2019).

Les techniques dont nous disposons peuvent être qualifiées de directes ou indirectes.

### a. Les méthodes directes mesurent la Concentration Minimale Inhibitrice (C.M.I.)

Ce sont les méthodes de référence recommandées par les organisations internationales : méthode de dilution en gélose ou méthode de dilution en milieu liquide. Leur principe est simple: la concentration minimale inhibitrice est la plus faible concentration de l'ATB qui inhibe en 18 heures la croissance visible d'un inoculum bactérien standardisé (Morel, 2017).

### b. Une méthode indirecte, la méthode de diffusion en gélose, ou méthode des disques

C'est une méthode universellement utilisée (Figure 6). Elle donne des résultats qualitatifs, mais qui peut aussi donner des résultats quantitatifs par la mesure précise des diamètres des zones d'inhibition et l'utilisation de droites de concordance diamètre - logarithme de la CMI (Thabaut *et al.*, 1979).

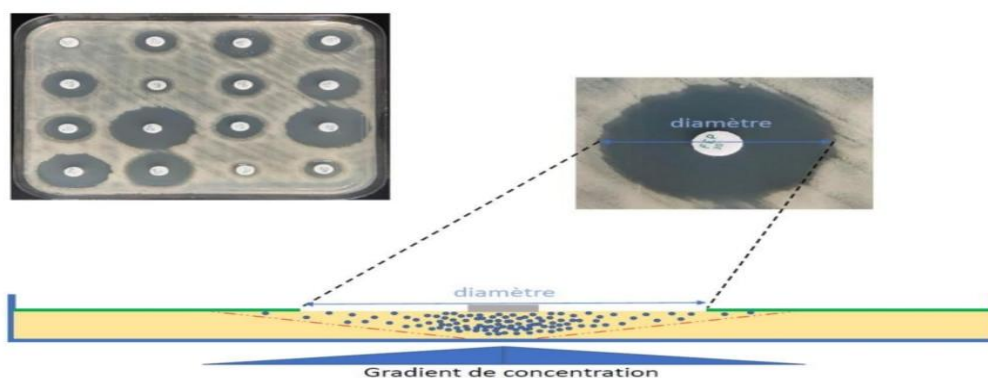


Figure 6 : principe de l'antibiogramme par diffusion (Rohello, 2020).

c. **Antibiogramme automatisé** : Est le plus fréquemment utilisé et le plus rapide ; il permet une mesure approchée de la CMI.

- **Le BD Phoenix M50**: Est un automate d'analyse couramment utilisé dans les laboratoires HMA. C'est un système d'identification automatique, en plus d'une identification précise souches bactériennes, en déterminant leur sensibilité à divers antibiotiques (**Dabaj, 2021**).

- **Automates (Vitek 2)**: C'est la technique la plus couramment utilisée. Souvent utilisée dans les laboratoires de diagnostic. Cette technique utilise des cartes d'identité et Spectre antibactérien, qui permet de faire le spectre antibactérien des bactéries, mais aussi d'identifier ces dernières selon leur phénotype de résistance (**Seydina, 2017**).

# *Chapitre 2*

## *Les huiles essentielles*



## 1. La monographie de la plante

### 1.1 Présentation

Les eucalyptus sont de très grands arbres appartenant à la famille des Myrtacées. Il existe aujourd'hui plus de 500 espèces différentes d'eucalyptus ils sont originaires d'Australie, mais se trouvent également en Amérique du Sud, en Afrique et en Europe, où ils ont appris à s'adapter (**Koziol, 2015**).

*L'Eucalyptus globulus* est un très grand arbre qui peut atteindre des hauteurs considérables atteignant les 30 mètre « même jusqu'à 80 mètre dans son pays d'origine », leur écorce de pèle en larges et les feuilles des arbres juvéniles apparaissent par paires sur des tiges carrées (**Mokaddem, 2012**).

### 1.2. Noms vernaculaires

- **Nom latin** : *Eucalyptus globulus*.

- **Noms français ou vernaculaires** : Eucalyptus globuleux, gommier bleu, Eucalyptus bleu, arbre à fièvre, Eucalyptus commun, Eucalyptus officinal.

- **Arabe** : كاليثوس (kalitous)

- **Berbère** : kritous (**Koziol, 2015**)

### 1.3. Propriétés

Les propriétés médicinales de l'Eucalyptus sont surtout attribuables à l'eucalyptol (aussi appelé 1,8-cinéole) que renferment ses feuilles. Le 1,8-cinéole que contient l'Eucalyptus s'est révélé efficace pour réduire la dose de corticostéroïdes utilisée par des sujets souffrant d'asthme (**Juergens et Dethlefsen, 2003**) et pour combattre le rhume (**Tesche et Metternich, 2008**).

### 1.4 Description botanique

Le genre Eucalyptus comporte plus de 600 espèces et sous espèces qui ne sont pas totalement caractérisées. Les Eucalyptus sont des arbres à tronc élancé et à cime développé, leur écorce est persistante, plus ou moins fibreuse ou caduque se levant chaque année en plaques ou lanières (**Bupha, 2015**), Leur feuillage est décoratif, souvent très variable avec l'âge et persistantes. Les fleurs verdâtres, sont singulières et en forme d'encensoir. Le fruit est une capsule ligneuse quadrangulaire. Période de floraison et de récolte entre Mai et Octobre (**Koziol, 2015**).

#### 1.4. Systématique

**Tableau 3:** systématique de l'espèce *Eucalyptus globulus*.

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida-Dicotylédones
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i>

#### 1.5. Habitat et répartition géographique

Les *Eucalyptus globulus* sont des arbres d'Australienne. Ce genre a été introduit au Maroc la première fois au début du 20<sup>ème</sup> siècle et le domaine forestier marocain est caractérisé par une dominance des *Eucalyptus* surtout dans la région d'Oued Cherrât (Rabat, Casablanca), la région de Tétouan, Essaouira, Safi, et la région d'Oujda (**Hmamouchi, 1999**).

L'*Eucalyptus* est introduit en Algérie en 1854, il s'étend dans des régions les plus sèches jusqu'aux cotes humides (**Beloued, 1998**). Il est apte à résister au froid et à croître sur des sols secs, siliceux calcaires, humides ou argileux, salés ou non, près ou loin de la mer (**Merrouche et al., 2016**).

#### 1.6. Utilisations traditionnelles

*E. globulus* a des propriétés antipaludiques et il est par conséquent utilisé contre les moustiques responsables du paludisme en Italie, en Algérie et en Sardaigne (**Coetz et Ghedira, 2012**).

Au XIX<sup>e</sup> siècle les feuilles l'eucalyptus était considérées comme antipyrétique (**Pal et al., 2012**), antalgique des Céphalées, ces feuilles sont utilisées traditionnellement par voie orale et usage en cas de rhume et de nez bouché (**Coetz et Ghedira, 2012**).

En cataplasme ou en inhalation, elles sont employées contre la fièvre, la sinusite et la  
Et aussi bronchiteux éloigner les moustiques et les mouches et pour désinfecter les locaux  
(Tahri et El bsti, 2012 ).

### 1.7. Toxicité

La toxicité de l'*Eucalyptus globulus* se manifeste par une neurotoxicose  
(Hmamouchi, 1999). A très forte dose, l'essence de l'Eucalyptus provoque la céphalée,  
l'ivresse, et la prostration.(El Ouafi, 1997).



**Figure 7 :** photographie de *eucalyptus globulus* en zone résidentielle (Pauline, 2019 ).

## 2. Historique

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'année 3000 avant J.C. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses (**Baser et Buchbauer, 2010**). Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles (**Besombes, 2008**).

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec la civilisation arabe, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale.

Ensuite, le procédé d'entraînement à la vapeur d'eau apparut vers l'an mille par Avicenne, médecin et scientifique Persan. Durant le 13<sup>ème</sup> siècle, les huiles essentielles sont devenues préparées par les pharmaciens et leurs effets pharmacologiques ont été décrits dans les pharmacopées (**Bauer et al., 2001**), mais leur utilisation n'a pas été largement répandue en Europe qu'avec le 16<sup>ème</sup> siècle (**Burt, 2004**). Au 17<sup>ème</sup> siècle, Hermann Boerhaave décrivit les huiles essentielles d'un point de vue chimique (**Hellal, 2011**).

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice ATTEFOSSÉ a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**Besombes, 2008**).

## 3. Définitions et généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles également appelées huiles volatiles ou étherées, sont des substances extraites de plantes, et obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (**Burt, 2004**). Ils peuvent être obtenus par expression, fermentation, enfleurage ou extraction noter que la méthode de la distillation à la vapeur est la plus utilisée pour la production commerciale des huiles essentielles (**Kimbaris et al., 2006**).

## 4. Caractéristiques et propriétés physicochimiques

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (**Bruneton, 1993**), les principales caractéristiques sont :

Aspect liquide à température ambiante, n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles, volatiles et très rarement colorées, une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en mono terpènes, un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en mono terpènes et en dérivés oxygénés, solubles dans les alcools, douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques, très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (Zabeirou et Hachimou, 2005).

## 5. Extraction des huiles essentielles

Est un procédé complexe et délicat. Elles sont obtenues à partir de feuilles, fleurs, fruits, graines, bourgeons, de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, ou de tiges (Shaaban *et al.*, 2012).

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. (Fernandez, 2017), cette diversité est due à la variété des matières et à la sensibilité considérable de leurs certains constituants. Le choix de méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire et de l'usage de l'extrait (Lucchesi, 2005).

Parmi les différentes techniques qui existent, on rapporte ci-dessous les plus utilisés :

### 5.1. Entraînement à la vapeur d'eau

Les méthodes d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Figure 08) sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau (Afnor, 2000).

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des Huiles essentielles. Il existe trois méthodes : Hydrodistillation simple, la distillation à la vapeur saturée et l'hydro-diffusion (Boukhatem *et al.*, 2019).

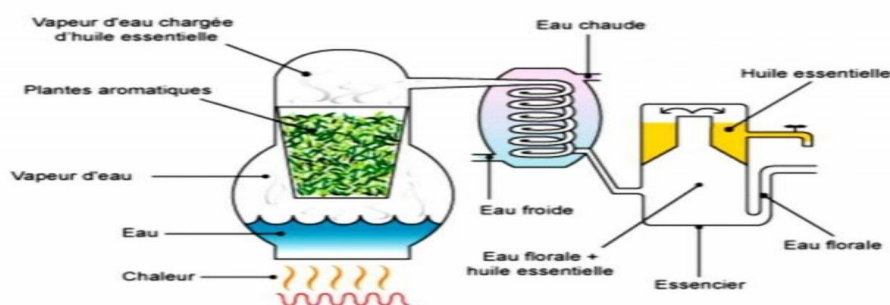
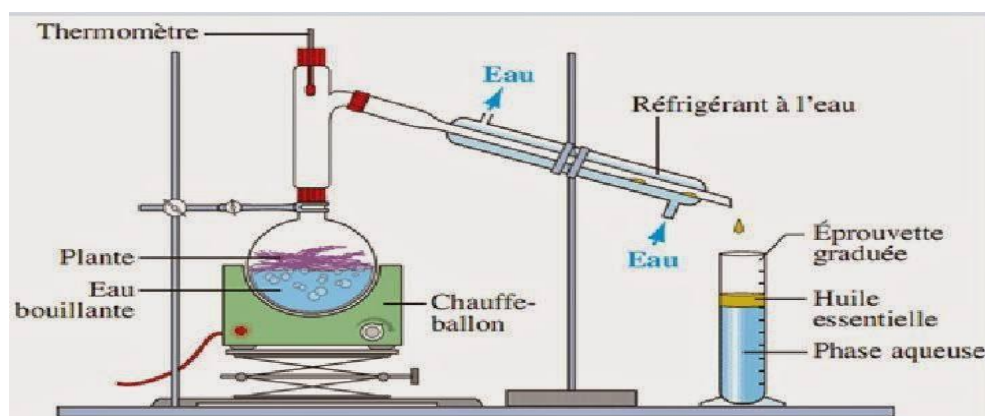


Figure 08: Montage d'entraînement à la vapeur d'eau (Boukhatem *et al.*, 2019)

## 5.2. Hydrodistillation simple (ou Hydrodistillation de type Clevenger)

Le principe de l'Hydrodistillation simple (**Figure 09**) 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. Hydro distillation simple est traditionnellement la plus couramment utilisée car elle est la plus économique (**Bruneton, 1993**).



**Figure 09:** Montage d'extraction par hydro distillation simple (**Piochon, 2008**).

## 5.3. Distillation à vapeur saturée (Vapo-Hydro distillation)

Dans cette méthode, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées (**Wichtl et al., 2003**).

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 (**Bruneton, 2008**).

## 5.4. Hydro diffusion

L'Hydro diffusion (**Figure 10**) est une éco-distillation descendante. Dans ce procédé, le matériel végétal est disposé dans un parallélépipède métallique grillagé.

L'avantage de cette technique se traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie (**Bassereau, 2007**).

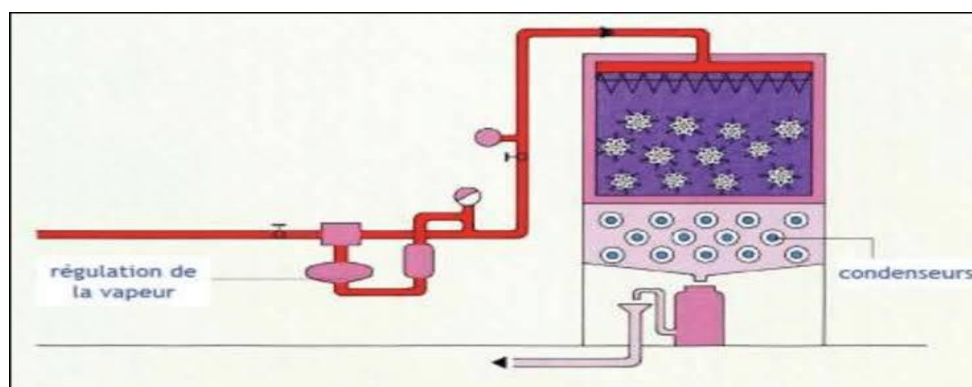


Figure 10: Montage d'extraction par hydro diffusion (Wijesekara *et al.*, 1997)

### 5.5. Expression mécanique à froid

Cette méthode est utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est ensuite séparée par décantation ou centrifugation (Chaintreau *et al.*, 2003).

### 5.6. Enfleurage

Le principe de la méthode consiste à faire absorber les HE par un corps gras, que l'on doit séparer ensuite pour obtenir les huiles essentielles pures. Cette technique est très peu utilisée de nos jours (Teflon, 2003).

### 5.7. Extraction par les solvants

La méthode d'extraction par solvants (Figure 11) est utilisée pour les plantes fragiles qui sont plongées dans une préparation chimique provoquant la dissolution des substances aromatiques. Après séparation du solvant par distillation, on obtient un produit cireux qui doit être dissout avec de l'alcool. Ce dernier est ensuite éliminé par évaporation (Shellie *et al.*, 2004).

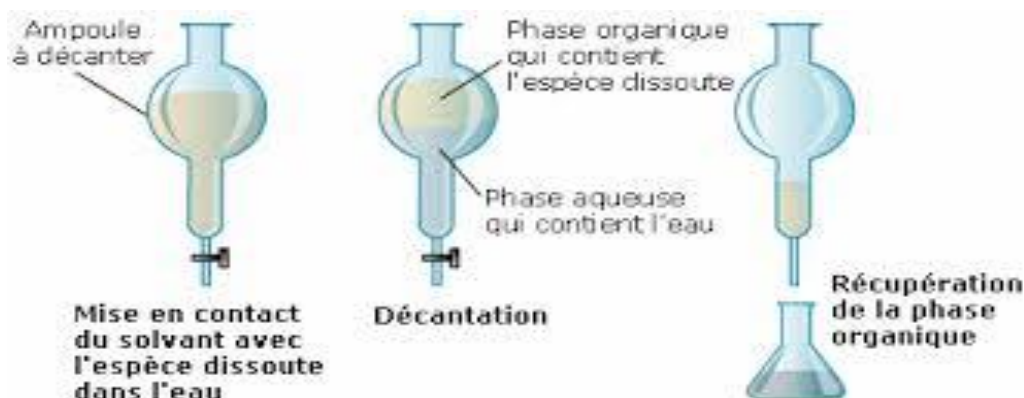
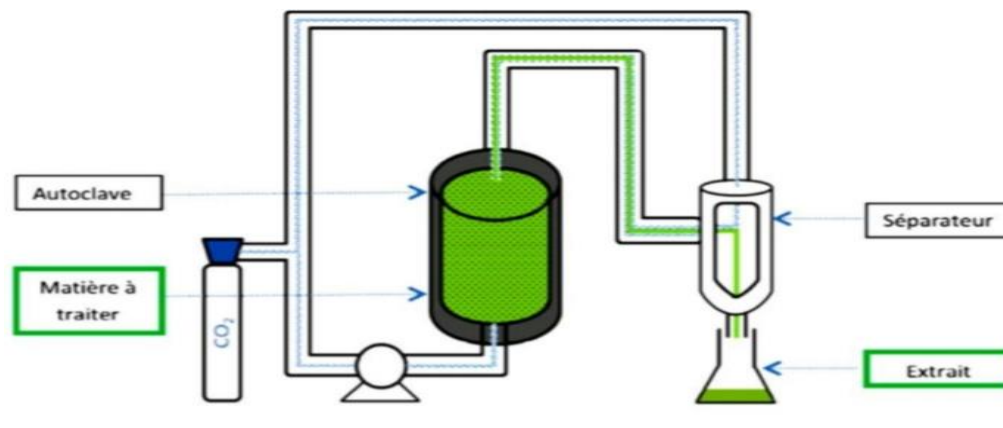


Figure 11: Technique d'extraction par solvants (Belaiche, 1979)

### 5.8. Extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique

L'originalité de cette technique (**Figure 12**) repose sur le solvant utilisé: il s'agit du CO<sub>2</sub> en phase supercritique. L'extraction consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au delà de son point critique (**Lorrain *et al.*, 2013**). A l'état supercritique, le CO<sub>2</sub> n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre (**Peron *et al.*, 1992**).



**Figure 12:** Extraction par Co<sub>2</sub> (**Boukhatem *et al.*, 2019**)

### 5.9. Extraction par les corps gras

Cette technique est appelée aussi l'enfleurage, elle est utilisée dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras.

Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite (**Cordero *et al.*, 2007**).

### 5.10. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes (**Figure 13**) appelé en anglais: Vacuum Microwave Hydrodistillation, consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide (**Bianchini, 1997**).

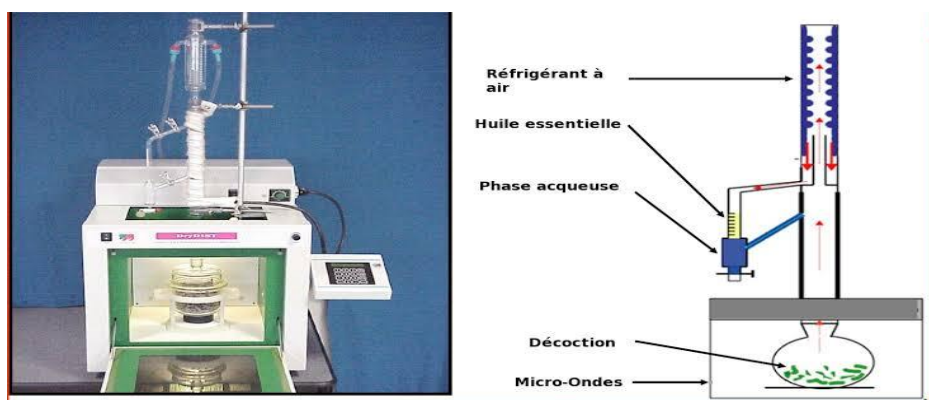


Figure 13: Extraction par micro-ondes (Lucchesi *et al.*, 2004)

### 5.11. Extraction par les gaz supercritiques

Au delà du point critique, un fluide peut avoir la densité d'un liquide et la viscosité d'un gaz, d'où une bonne diffusibilité dans les solides et un bon pouvoir solvant. Si plusieurs gaz peuvent en théorie être utilisés, l'intérêt s'est porté initialement sur le dioxyde de carbone (Bruneston, 2008).

## 6. Analyses des huiles essentielles

Différentes méthodes analytiques peuvent être utilisées, mais la plus adaptée est celle de la chromatographie en phase gazeuses.

### 6.1. Chromatographie en phase gazeuse

C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. Elle permet la séparation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention. Le principe est basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. La phase mobile est un gaz appelé gaz vecteur (Audigie, 1995).

### 6.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique (Maack *et al.*, 1994).

Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse (Desjobert *et al.*, 1997).

## 7. Activité biologique des huiles essentielles

L'activité biologique des principes actifs contenus dans les huiles essentielles est liée à leur chémotype, c'est-à-dire les molécules bioactives qui existent principalement, leur composition ou groupe fonctionnel, la plupart des composés (alcool, phénols, terpénoïdes et cétones) et leurs effets synergiques. Parce que les huiles essentielles contiennent souvent 50 à 100 molécules biochimiques différentes (Toure, 2015).

### a. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles sont connues pour avoir une activité antimicrobienne et certaines d'entre eux sont classées comme substances sûres et peuvent donc être utilisées pour prévenir la Croissance de micro-organismes pathogènes et contaminants (Gachkar *et al.*, 2007).

#### a.1. Activité antibactérienne

Le plus souvent, l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides (Benkherara, 2011), il ya beaucoup d'huiles essentiels exerce une activité antibactérienne ont mentionnées quelques exemples tels que : *Eucalyptus globulus*, *Thymus hirtus*, *Rosmarinus tournefortii*, *Salvia officinalis*, *Schinus molle*, etc.

#### a.2. Activité antivirale

La présence de monoterpènes dans leurs compositions chimique leurs confèrent plusieurs mode d'action tels l'inhibition de l'adsorption des virions par attraction et fixation sur les parois et les membranes de cellules, la déstabilisation de la membrane cellulaire des virus, etc. néanmoins, peu de données sur l'effet de HSV-1 et HSV-2 ainsi que sur les infections virales de façon générale (Desramaux, 2018).

#### a.3. activité antifongique

Les molécules antifongiques sont les mêmes molécules qui ont de puissantes propriétés antibactériennes. Cependant, le traitement des infections fongiques prend plus de temps. Des alcools et des lactones sesquiterpéniques peuvent également être utilisés. Cette double action antibactérienne et antifongique met en évidence le grand potentiel des huiles essentielles par rapport aux antibiotiques, qui sont souvent à l'origine de mycoses lors d'un traitement anti-infectieux (Desramaux, 2018).

**b. Activité antioxydante**

Les antioxydants sont définis comme tout ce qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres, les rendant ainsi inoffensifs (**Yanishlieva et al., 1999**). Certains composants des huiles essentielles ont un fort pouvoir antioxydant. Étiqueter et vendre aujourd'hui : eugénol, thymol, carvacrol, etc. Les résultats publiés montrent que les huiles essentielles sont une bonne source d'antioxydants naturels (**Burits et Bucar, 2000**).

**c. Activité anticancéreuse**

Les huiles essentielles agissent au niveau de la prévention du cancer ainsi qu'à leur niveau anticancéreux effacé. Certains aliments, comme l'ail ou le curcuma, sont connus pour être de bonnes sources d'agents anticancéreux utilisables pour prévenir les crises de cancer (**Béliveau et al., 2006**). Certains de ces aliments contiennent des composés volatils dont l'activité chimio-préventive a été surlignée. Par exemple, l'huile essentielle d'ail est une bonne source de composés de sulfure (**Pyun et al., 2006**). Elle est reconnue pour son effet préventif sur le cancer (**Milner, 2001 ; Milner, 2006**).

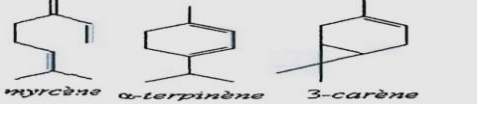

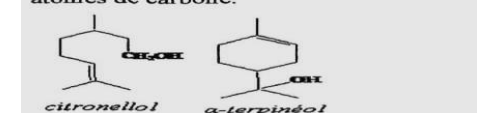

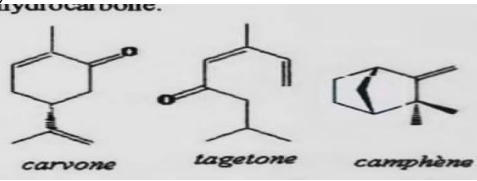
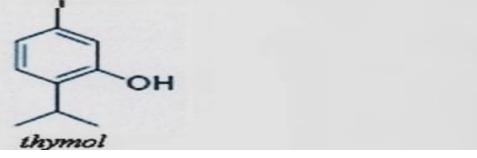
**d. Activité anti-inflammatoire**

Les constituants des huiles essentielles, tels que les monoterpènes hydrocarbonés, les sesquiterpènes hydrocarbonés et les alcools sesquiterpéniques ont montré une activité inhibitrice de la 5-lipoxygénase, l'enzyme responsable de la production des leucotriènes soupçonnés de jouer un rôle important dans la maladie d'Alzheimer (**Chao, Hua, Hsu, Cheng, Liu et Chang, 2005**).

**8. La composition chimique des huiles essentielles**

Du point de vue chimique, les huiles essentielles (**Tableau 4**) sont constituées de mélanges extrêmement complexes (**Buchanan et al., 2000**), elles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Kurkin, 2003**).

Tableau 4: La composition chimique des huiles essentielles (Bruneton, 1999).

La composition des HE	La Structure	Exemples des HE
<b>Les monoterpènes</b>	<p>Composé de deux unités d'isoprènes</p>  <p>myrcène    α-terpinène    3-carène</p>	<p>-HE de térébenthine (camphène); -HE de genévrier (cadinène).</p>
<b>Les sesquiterpènes</b>	<p>Composés de trois unités d'isoprènes</p>  <p>trans-farnésol</p>	<p>-HE de citron (limonène) ; -HE de genévrier (cadinène) ; -HE d'Eucalyptus.</p>
<b>Les alcools</b>	<p>Composés d'un atome d'hydrogène et un atome d'oxygène se rattachent à des atomes de carbone.</p>  <p>citronellol    α-terpinéol</p>	<p>-HE de coriandre (linalol). -HE de rose (géraniol)</p>
<b>Les esters et acides</b>	<p>Des combinaisons complexes de carbone d'hydrogène et d'oxygène</p>	<p>-HE de lavande (acétate linalyle); -HE de menthe (menthol).</p>
<b>Les aldéhydes</b>	<p>Formé par l'oxydation des alcools</p>  <p>géraniol</p>	<p>- HE de cannelle (aldéhyde annamique) ; -HE de citronnelle (citral).</p>
<b>Les cétones</b>	<p>Un seul atome d'oxygène se lie à un atome de carbone pour former une qui se rattache en suite à un composé hydrocarboné.</p>  <p>carvone    tagétone    camphène</p>	<p>-HE de carvi (carvone) -HE de thuya (thuyone).</p>
<b>Les phénols</b>	<p>Une unité d'hydroxyle se rattache à un anneau d'atome de carbone.</p>  <p>thymol</p>	<p>-HE de thym (thymol); -HE de sarriette (carvacrol); -HE d'origan (thymol et carvacrol).</p>

## 9. Les Facteurs influençant la composition des huiles essentielles

En fait, les essences produites par différentes espèces de plantes varient dans leurs caractéristiques physico-chimiques selon plusieurs facteurs. Ces derniers peuvent influencer à la fois sur la composition chimique proprement dite et le rendement de leur extraction. **(Randrianarivelo, 2010).**

Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante **(Bouguerra, 2012).**

### a. Facteurs intrinsèques

- **L'espèce botanique** : Une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal **(Bruneton, 1999).**

- **Le chémotype** : les chimiotypes ou races chimiques sont très fréquents chez les plantes à huiles essentielles. Ce sont des plantes appartenant à la même espèce végétale, selon les conditions écologiques (localité, relief, exposition, dénivelé...), également en raison des nuances du parcours Biosynthèse pouvant affecter son activité thérapeutique. **(Bruneton, 1999).**

Aussi il ya d'autres nombreux facteurs influencent le rendement, la teneur, les caractéristiques physico-chimiques et la composition chimique des huiles essentielles tels que la technique d'extraction, le séchage, la période et le milieu de récolte, les pratiques culturales et l'âge du matériel végétal **(Toure, 2015).**

### b. Facteurs extrinsèques

Les conditions environnementales peuvent également affecter la composition des huiles essentielles. La température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent de nombreuses causes potentielles de changements dans les composés phytochimiques aromatiques des plantes données **(Olle et Bender, 2010).**

## 10. Les types des microorganismes cibles

Les huiles essentielles peuvent être bactéricides contre certaines souches et bio-inhibitrices contre certaines souches, Ou autre aucun effet. Cela peut être lié au type de micro-organisme (*Gram positif* ou *Gram-négatif*), sa forme de plancton ou de biofilm, son métabolisme et sa résistance. **(Lekhdar, 2015).**

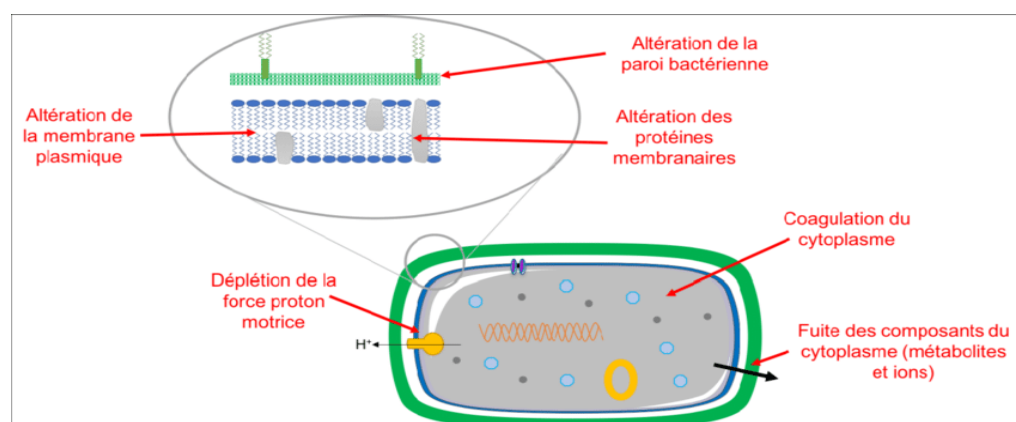
Les champignons présentent généralement une sensibilité plus élevée que les bactéries, et Parmi les bactéries, les bactéries Gram négatives semblent plus résistantes que les bactéries Gram positives aux Huiles essentielles (Cox *et al.*, 2000). Une sensibilité supérieur des bactéries anaérobies a été observée quel que soit les huiles essentielles par rapport à celles vivant en aérobies (Amaral *et coll.*, 1998).

### 11. Mode d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles (Figure 14) 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 (Toure, 2015).

En raison du nombre important des constituants qu'elles contiennent, les huiles essentielles n'ont pas de cibles cellulaires spécifiques (Carson *et Riley*, 2002). En tant que lipophiles, elles passent à travers la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique, induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane ce qui perturbe la structure des différentes couches polysaccharidiques, des couches phospholipidiques, des acides gras et rend ainsi la membrane perméable. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (Benkherara, 2011).

L'huile essentielle peut solidifier ou coagulé le cytoplasme (Gustafson *et al.*, 1998), induit des dommages causés aux lipides et aux protéines (Ulete *et al.*, 2002; Burt, 2004). En cas de phototoxicité, les huiles essentielles pénètrent dans les cellules sans endommager les membranes, les protéines ou l'ADN. Lorsque les cellules sont exposées à la lumière, des réactions radicalaires se produisent en raison de l'excitation de molécules spécifiques et du transfert d'énergie dû à la production de mono oxygène (Deschepper, 2017).



**Figure 14:** Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau microbien (Lboumhamdi *et al.*, 2018).

## 12. Domaine d'utilisation des huiles essentielles

Des domaines principaux exploitent les diverses potentialités qu'offrent les huiles essentielles. Alors En pharmaceutiques ces préparations contenant des huiles essentielles répondent à la réglementation des médicaments à base de plante. De plus en plus, ces produits sont enregistrés sous le statut de complément alimentaire (Deschepper, 2017). D'autre part la parfumerie C'est le débouché principal des huiles essentielles où la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène en sont les marchés principaux (Randrianarivelo, 2010), mais dans la domaine de agro-alimentaire les huiles essentielles sont devenues des arômes naturels et des rehausseurs de goût dans de nombreux domaines de l'agroalimentaire : liqueurs, boissons, confiseries, plats cuisinés (Fernandez, 2012).

## 13. Toxicité des huiles essentielles

Bien que d'origine naturelle, les huiles essentielles peuvent se révéler dangereuses pour la santé. Il est ainsi important de connaître le produit, le choisir selon des critères qualificatifs rigoureux (produit de qualité non falsifié, non contaminé par des pesticides), de respecter scrupuleusement les doses et de choisir le mode d'administration adéquat, par ce que on marquée des toxicités dangereux a cause de l'huile, grâce à ces contenants ( phénols , cétone et les lactones (Chabenat, 2017). La toxicité des huiles essentielles peut aussi provenir des contaminants (si l'huile essentielle est impure) et/ou des produits de dégradation de celles-ci car elles se modifient à l'air, à la chaleur et à la lumière. Il ya des différents type de toxicité. ( Des toxicités cutanées et autres organique) (Deschepper, 2017).

## 14. La synergie entre les huiles essentielles et les antibiotiques

La synergie entre huiles et ATBS est signalée dans plusieurs études, qui constitue une interaction positive lorsque deux associations de médicaments indiquent un effet réprétifiant que la somme de ses effets individuels (Chouan *et al.*, 2017), cette association est utilisée pour augmenter le spectre antimicrobien, interfère Avec l'apparition de la variante résistive et augmente la vitesse de l'effet bactéricide (Dens et Hidri, 2009). Et minimiser la toxicité, et minimiser les effets secondaires de l'antibiotique (Lv *et al.*, 2011 ; Maalem et Rafa, 2019).

L'association entre deux agents ne sera pas systématiquement synergique, il existe quatre types d'interaction (Chabenat, 2017).

- **Synergique** : Qui correspond a une association dont l'effet de cette association est supérieur à la somme des effets de chacun seul à la même concentration (**Chabenat, 2017**).

$$\text{Effet [A+B]} > \text{Effet [A]} + \text{Effet [B]}$$

- **Additif** : Qui correspond a une association dont l'effet est égal à la somme des effets de chacun seul à la même concentration.

$$\text{Effet [A+B]} = \text{Effet [A]} + \text{Effet [B]}$$

- **Indifférente** : qui correspond a une association dont l'effet est égal à celui le plus efficace à la même concentration (**Chabenat, 2017**).

$$\text{Effet [A+B]} = \text{Effet [A]} \text{ ou Effet [B]}$$

- **Antagoniste** : qui correspond à une association dont l'effet est inférieur à la somme des effets de chacun seul à la même concentration (**Chabenat, 2017**).

$$\text{Effet [A+B]} < \text{Effet [A]} + \text{Effet [B]}$$

# *Partie Pratique*



# *Chapitre 1*

## *Matériel et Méthodes*

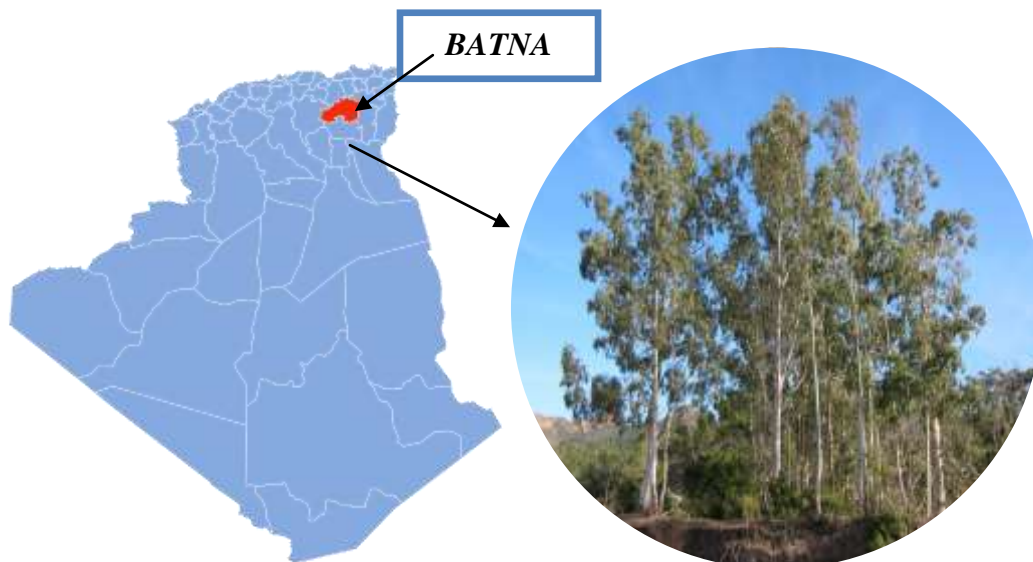


## Matériel et Méthodes

L'objectif de notre travail est d'étudier l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, cette dernière est obtenue par la méthode d'hydro distillation. Notre étude a été effectuée dans une période de 3 mois, au niveau des laboratoires du Hall technologique, à l'université Abbés Laghrour Khenchela.

### 1. Matériel végétal

Nous avons travaillé sur la partie aérienne (tiges, feuilles, et fleurs), de la plante d'*Eucalyptus globulus* (**Figure 15, 16**), l'identification botanique a été faite par *Dr. Zrieb Azzedine* du Département d'Agronomie, Université Abbes laghrour khenchela,. La plante a été collectée dans la région de Batna et plus précisément dans la cité Araar, puis séchée à l'ombre et à l'aire libre pendant 20 jours. Ensuite, un broyage de la plante a été réalisé pour passer à l'extraction de l'huile essentielle.



**Figure 15:** la zone d'échantillonnage de la plante *Eucalyptus globulus*.










**Figure 16:** photographie de la plante *Eucalyptus globulus* (Daroui, 2012).

## 2. Les souches bactériennes

L'activité antibactérienne à été étudié contre 7 souches bactériennes Gram + et Gram- (**tableau 5**), ces souche ont été fournies par le service de bactériologie d'un laboratoire d'analyses médicales. Le choix des souches est basé sur leur implication en pathologie humaine et notamment leur résistance aux antibiotiques.

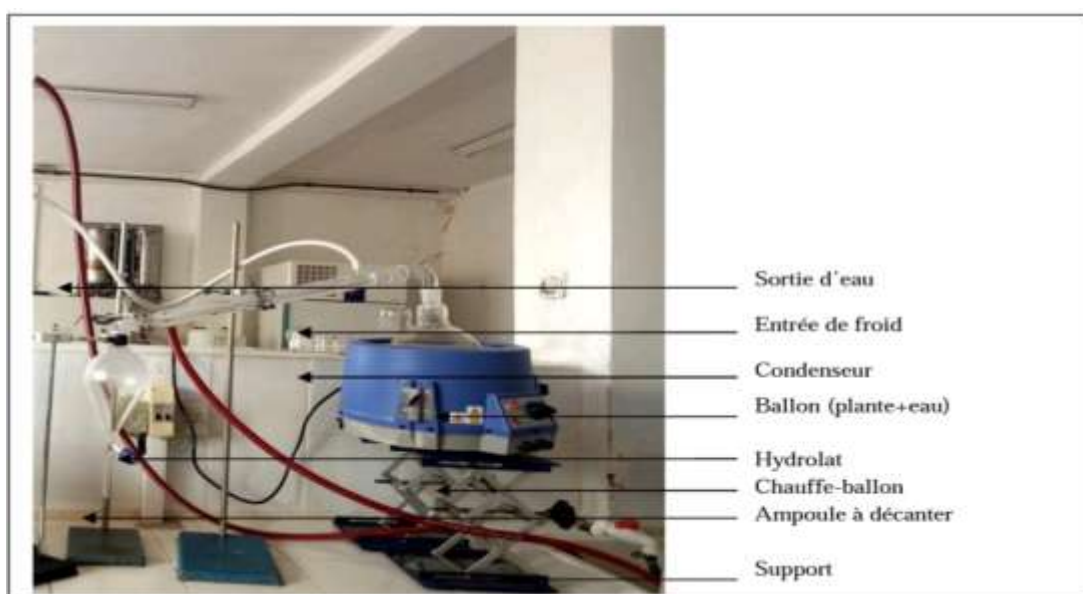
**Tableau 5:** liste des souches bactérienne testées.

<i>L'espèce bactérienne</i>	<i>Gram</i>	<i>Code</i>	<i>Pouvoir pathogène</i>	<i>Photo</i>
<i>Escherichia coli</i>	G(-)	EC A1	-Toxi-infection alimentaire. - infections urinaires. -septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites. - Douleurs abdominales et de diarrhées sanglantes (Mouas <i>et al.</i> , 2017).	
<i>Escherichia coli</i>	G(-)	EC A2		
<i>Escherichia coli</i>	G(-)	EC A3		
<i>Escherichia coli</i>	G(-)	EC A4		
<i>Escherichia coli</i>	G(-)	EC A5		

<i>Staphylococcus aureus</i>	G(+)	SA A1	-Infection hospitalière. - Responsable des abcès, des plaies, des septicémies, de pneumonie et de -l'intoxication alimentaire -Infections mortelles chez l'homme ( <b>Mouas et al., 2017</b> ).	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	G(-)	KP 1	- l'origine d'infection communautaire. - Responsable d'infection nosocomial, infections urinaires, intra-abdominales, infections de site opératoire et septicémie ( <b>Najiby, 2012</b> )	

### 3. Extraction d'huile essentielle

L'huile essentielle est extraite par hydro-distillation, (**Figure 17**) pour cela 100 g de matière végétale (partie aérienne d'*Eucalyptus globulus*), sont introduits avec 1 L d'eau dans un ballon de 2 L. Après installation et fermeture du montage, la mise en marche de la chauffe ballon est effectuée avec un réglage optimum du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction à une vitesse constante et bien maîtrisée.



**Figure 17:** le montage de l'Hydrodistillation de type Clevenger.

La vapeur chargée d'huile essentielle arrive dans le condenseur. La durée totale de l'extraction est estimée à 3 h (jusqu'à ce qu'on obtienne l'HE). L'huile essentielle se distingue de l'hydrolat (eau aromatique) par sa différence de densité et de couleur. On la sépare de celui-ci par décantation. Elle est ensuite séchée par du sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) puis récupérée et conservée, dans un flacon opaque et hermétique à 4° C.

### 3.1. Détermination de rendement

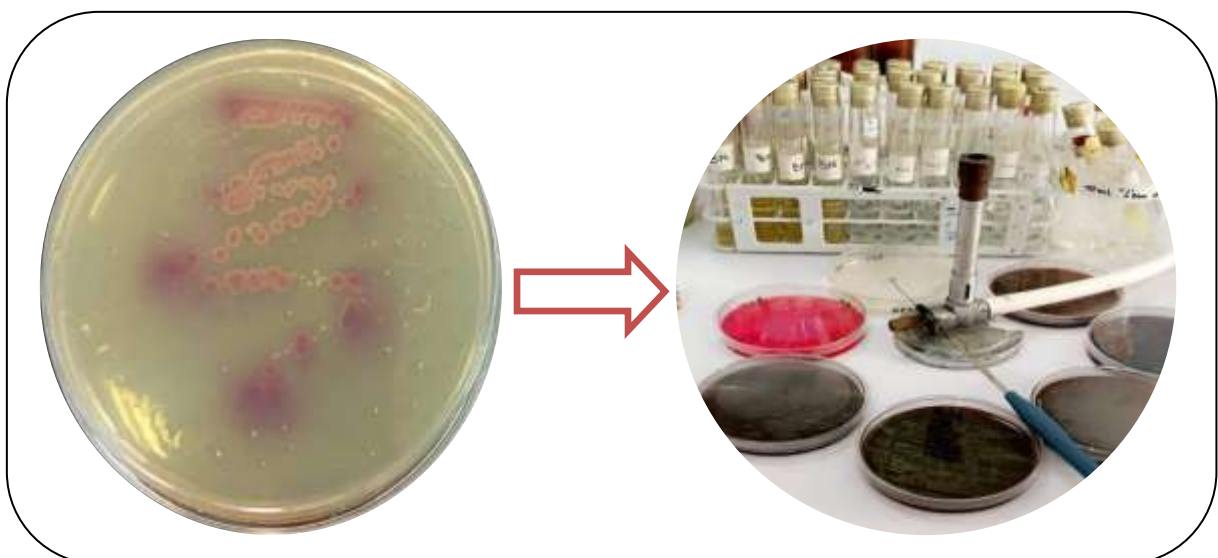
Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport de la masse de l'huile essentielle et la masse du matériel végétal utilisé pondant l'extraction. Il est calculé selon la formule suivante décrite par **Adda et al., (2020)**:

$$\text{RHE} = (\text{MHE} / \text{MPE}) \times 100$$

- RHE : rendement en huile essentielle (%)
- MHE : masse d'huile essentielle obtenue (g)
- MPE : masse de la plante sèche traitée (g)

## 4. Le repiquage des souches bactériennes

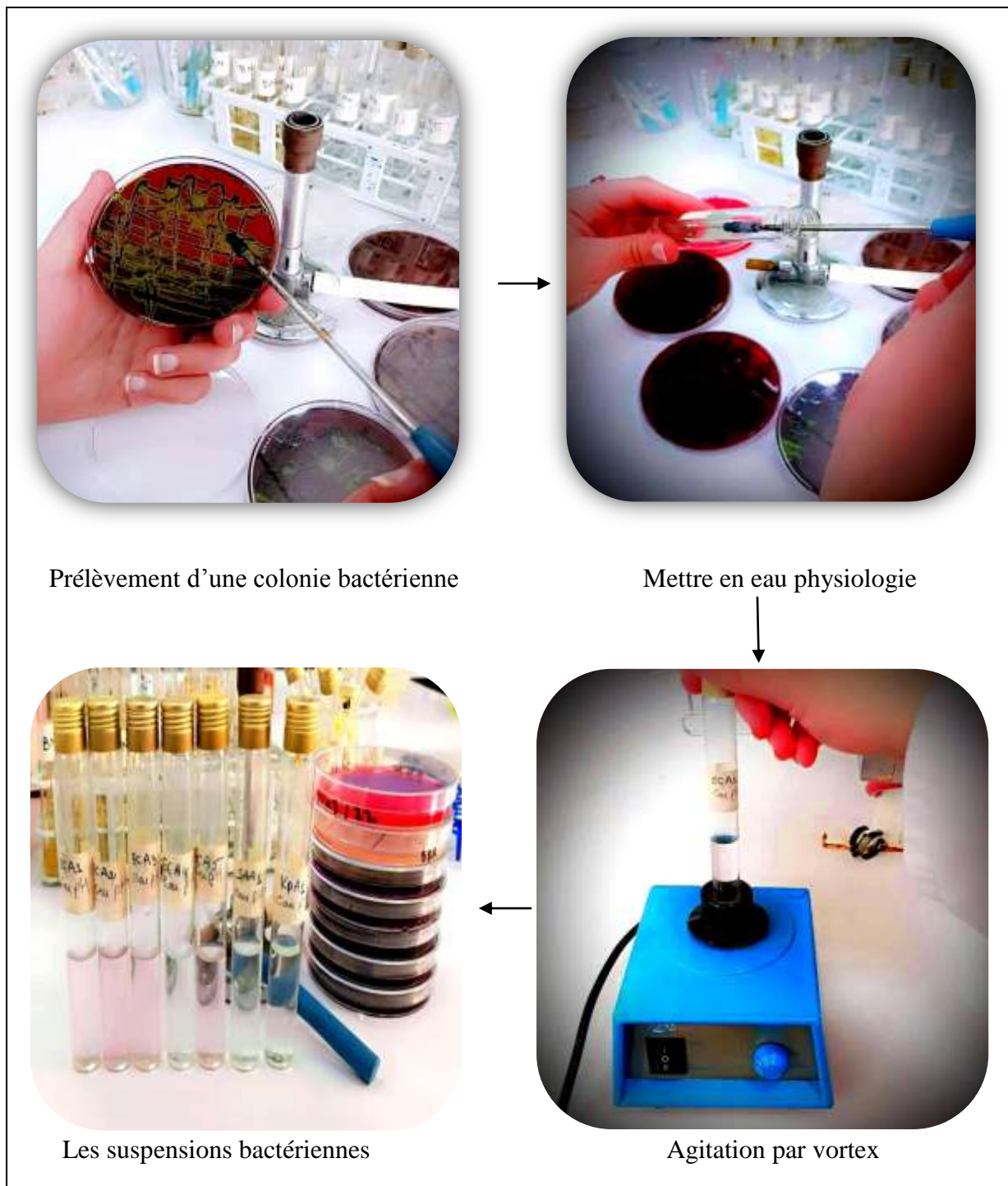
Le repiquage des souches bactériennes (**Figure 18**) est nécessaire pour avoir des cultures jeunes (**Bendahou et al., 2007**). Pour cette raison, un repiquage des souches bactériennes est effectué en prenant un volume couvrant la boucle de l'anse de platine que l'on a ensemencé sur la surface des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive, tout en travaillant dans des conditions aseptiques. Puis incubé dans une étuve à 37°C pendant 24h.



**Figure 18:** Repiquage des souches bactéries.

## 5. Préparation de la suspension bactérienne

Après une incubation à une température de 37°C pendant 24h (**Figure 19**), on prélève des colonies bien isolées avec une anse de platine et on les met dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est ensuite bien homogénéisée à l'aide d'un vortex, l'opacité de la suspension bactérienne doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland.



**Figure 19:** Préparation de la suspension bactérienne.

## 6. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

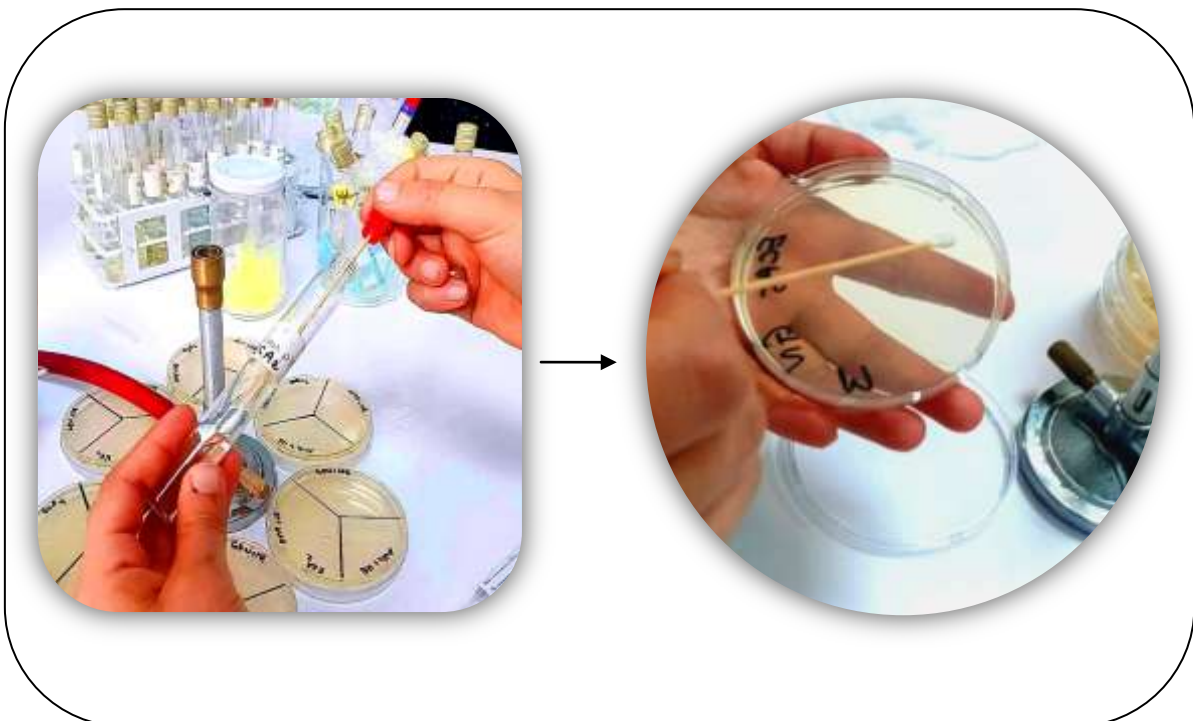
### 6.1. Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir du papier filtre, avec un diamètre de 6mm. Ensuite, ces disques sont mis dans un eppendorf, stérilisés à 120°C pendant 20 min par autoclavage, puis stockés pour toutes utilisations ultérieures.

### 6.2. L'ensemencement

Le milieu de culture utilisé est Muller-Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. L'ensemencement a été effectué à l'aide d'un écouvillon stérile que l'on a introduit dans la (suspension bactérienne) (**Figure 20**), et ensuite des stries sont réalisés sur le milieu gélosé à trois reprises, en tournant la boîte de pétrie à environ 45°c après chaque application dont le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. Enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose

**NB:** dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

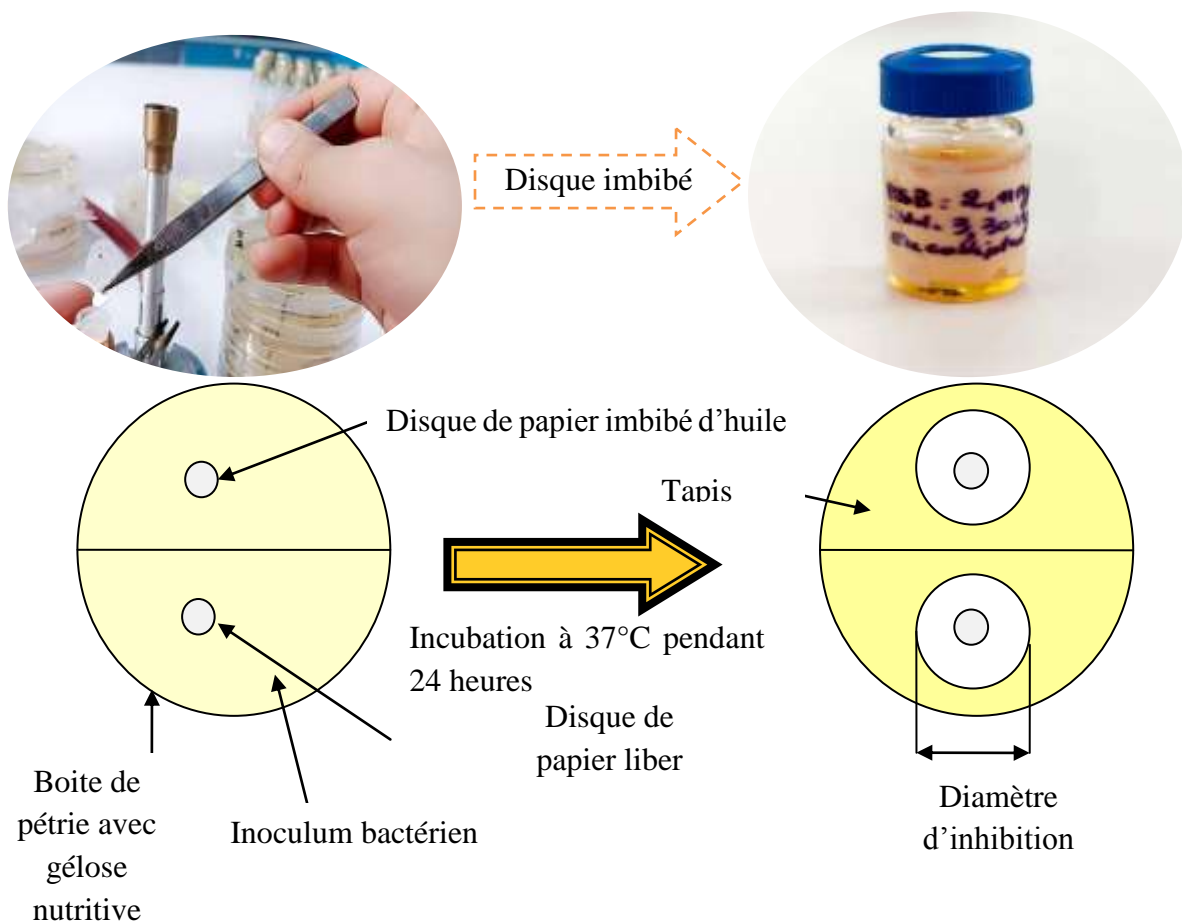


**Figure 20:** la technique d'ensemencement par écouvillonnage.

### 6.3. Dépôt de disque

A l'aide d'une pince stérile on a déposé un disque stérile de papier filtre d'un diamètre de 6 mm dans la boîte (Figure 21), sur lequel on a ajouté 10  $\mu$ l d'huile essentielle pure (Eucalyptus) sur la surface de disque. Après, on a laissé les boîtes de pétri à une température ambiante pendant 30 minutes pour une pré-diffusion. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 heures.

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition l'aide d'une règle graduée en millimètre (mm).



**Figure 21:** principe de la méthode de diffusion par disque

## 7. L'antibiogramme

Est un test *in vitro* de sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques par la technique de diffusion sur milieu gélosé selon (Jacob, 1979 ; Abdesselam, 2006 ; Razakarivony *et al.*, 2009).

Par conséquent, dans des conditions aseptiques et à la surface de boîtes contenant la gélose Muller Hinton préalablement coulée, on a écouvillonné la suspension bactérienne en surface partout et autour du bord du milieu., ensuite à l'aide d'une pince stérile on a déposé dans chaque partie de la boîte un disque stérile de papier filtre d'un diamètre de 6 mm sur lequel on a ajouté 6 µl de chaque antibiotique (**figure 23**), Après on a laissé les boîtes de pétri à une température ambiante pendant 15 minutes pour une pré-diffusion. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 heures.



**Figure 22:** le principe d'antibiogramme.

## 8. Méthode de Microatmosphère

Contrairement aux autres techniques, basée sur le contact direct d'huile essentielle avec le microorganisme, la méthode de Microatmosphère (**Figure 23**) repose sur l'évaluation de l'activité inhibitrice de la fraction volatile de huile, à une température d'incubation donnée, sur la croissance microbienne (Laghchimi *et al.*, 2014).

Elle est généralement utilisée pour définir l'activité des HEs qui sont employées comme conservateurs atmosphériques. pour cela , on a commencé par déposer un disque de papier filtre de 2,5 cm au centre du couvercle d'une boîte de Pétri contenant la gélose Muller -Hinton , ensemencé par 100 µl de la suspension bactériennes , puis on a ajouté 25 ul

d'huile essentielle sur le disque. Immédiatement, la boîte est inversée et scellée par du parafilm, puis incubée à 37 °C pendant 24 h. Les résultats sont présentés comme le diamètre de la zone d'inhibition.

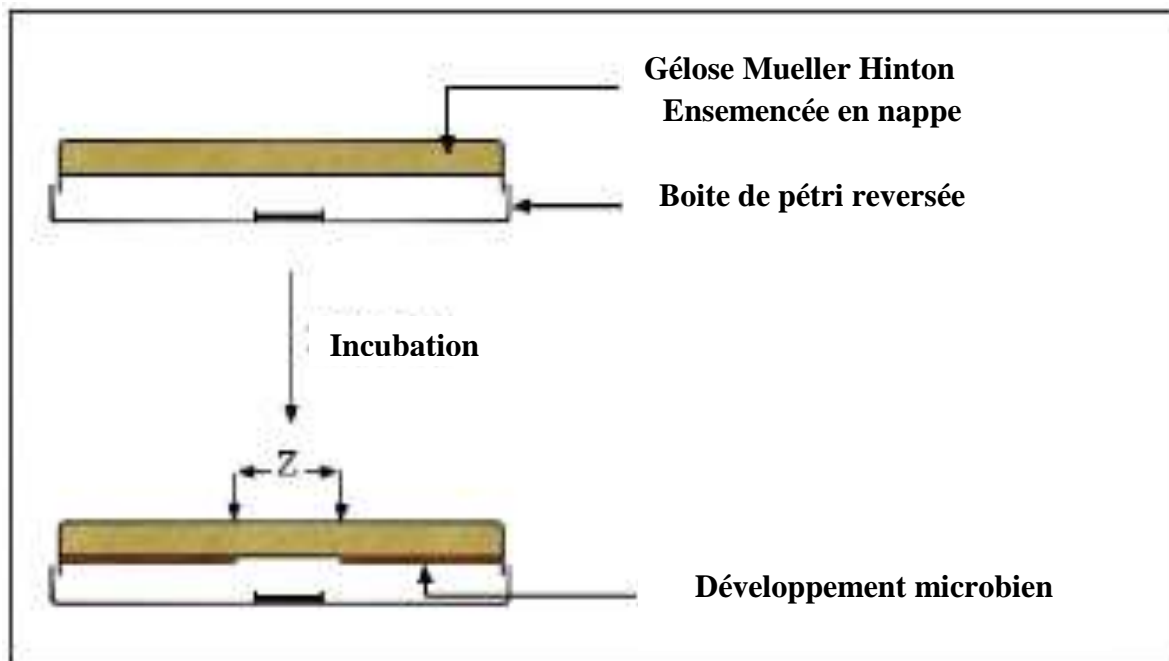


Figure 23: méthode de Microatmosphère (Raynaud ,2006).

## 9. Méthodes des micro-dilutions en milieu liquide

### 9.1. Préparation des dilutions d'HE et d'ATB

#### 9.1.1. Préparation des dilutions d'HE

On a procédé à une série de dilutions pour obtenir une gamme des concentrations finales comprise entre 187,5 et 11,71  $\mu\text{l/ml}$ .

Pour la première concentration nous avons pris 150  $\mu\text{l}$  d'HE *Eucalyptus globulus* à l'aide d'une micropipette que l'on a mis dans un eppendorf contenant 100  $\mu\text{l}$  de tween et 550  $\mu\text{l}$  d'eau distillée. Ensuite, à partir de la première concentration nous avons pris 400  $\mu\text{l}$  et nous l'avons mis dans autre eppendorf, puis nous avons ajouté 400  $\mu\text{l}$  de (tween 100 $\mu\text{l}$ +300  $\mu\text{l}$  d'eau distillée), pour obtenir un volume finale de 800  $\mu\text{l}$  (figure 25). De la même façon pour autres dilutions jusqu'à la dilution 1/32. Nous avons utilisé le tween parce qu'il permet de diluer et disperser les huiles essentielles dans l'eau.

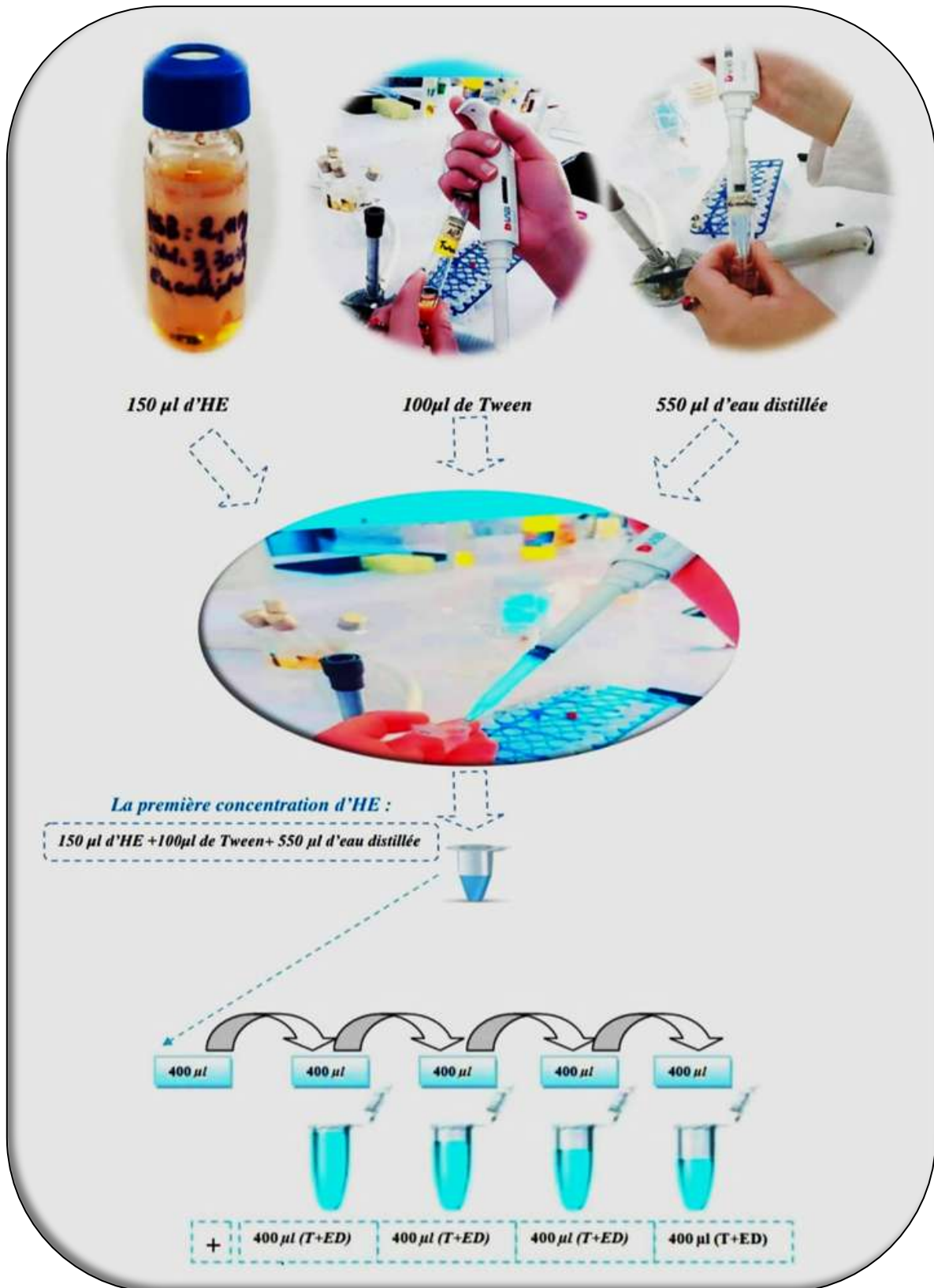


Figure 24: principe de la préparation des dilutions d'HE.

### 9.1.2. Préparation des dilutions d'ATB

#### a. Les dilutions de l'ampicilline

Pour la préparation de la concentration mère dans un tube à essai stérile on a mis 500 mg (1 gélule) dans 4 ml d'eau distillé. Ensuite, à partir de la première concentration nous avons pris 500 µl et nous l'avons mis dans un eppendorf contenant 500 µl d'eau distillée. Puis On a procédé a une série des dilutions successives de la même manière est effectuée pour à raison : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512 pour obtenir une gamme des concentrations finales comprises entre 125 et 0,24 mg/ml.

#### b. Les dilutions de la Gentamicine

Pour la préparation de la concentration mère, on a mélangé 80mg/2ml (1 ampoule) de gentamycine à 250 µl d'eau distillée dans un eppendorf stérile. A partir de cette concentration mère, nous avons pris 500 µl et on les a ajouté à 500 µl d'eau distillée, on a procédé a une série des dilutions a raison de 1/2, 1/4 ,1/8, 1/16, 1/32. Pour obtenir une gamme des concentrations finales comprises entre 300 et 9,37 µl/ml.

#### c. Les dilutions d'Augmentin

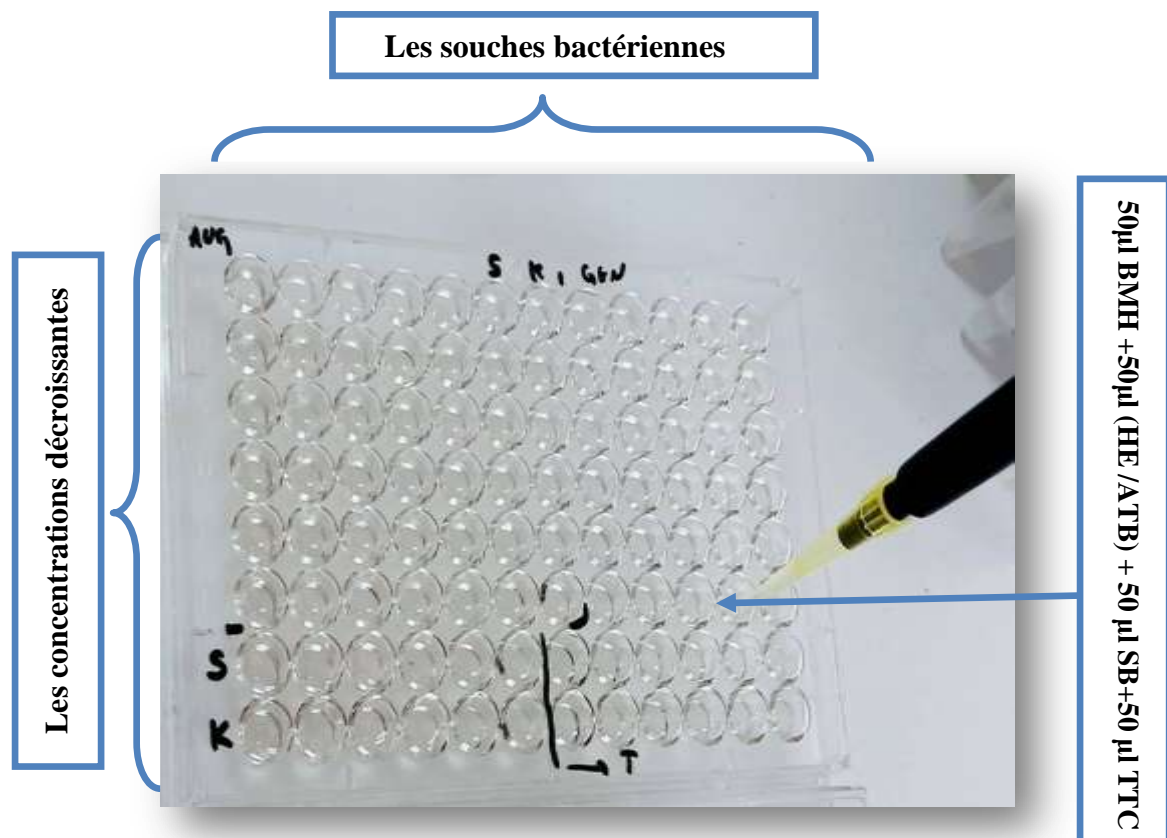
Pour la préparation de la concentration mère, on a mis dans un eppendorf stérile 3mg d'ATB et 1ml d'eau distillée. a partir de cette concentration mère, nous avons pris 500 µl sur laquelle on a ajouté 500 µl d'eau distillée. Puis On a procédé une série des dilutions successives pour obtenir une gamme de concentrations finales comprise entre 3 et 0,09 mg/ml.

### 9.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice d'Huile essentielle et des antibiotiques

La classification d'une souche bactérienne en sensible, intermédiaire, ou résistante à une huile essentiel et à un antibiotique est basée sur les valeurs critiques déterminées par les concentrations minimales inhibitrices (CMI) (**Figure 25**), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne. La détermination de la CMI a été réalisée selon la méthode rapportée par **Chebaibi et al ., (2015)**. La technique consiste à ensemercer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle ou antibiotique. Après incubation, l'observation des différentes dilutions permet de déduire la concentration minimale inhibitrice (CMI). Dans une microplaque de 96 puits d'un volume finale de 200 µl, des aliquotes de 50 µl de chaque dilution d'HE ou d'ATB préparé ont été ajoutées dans chaque puits de microplaque, Puis 50 µl de bouillon Mueller Hinton (BMH) inoculé avec 50 µl d'une suspension bactérienne à  $10^6$  UFC. ml<sup>-1</sup>; sont ajoutés à chaque puits.

Chaque ligne est réservée pour une souche déterminée, ce travail a été effectué sur sept souches donc sur sept lignes. et dans une autre ligne un témoin a également été réalisé. Après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C, la CMI est déduite à partir du premier puits de la gamme dépourvu de croissance microbienne.

La lecture s'effectue en utilisant un indicateur coloré le chlorure 2, 3,5-diphenyltetrazolium (TTC) diluée dans de l'eau distillée stérile, et ceci par l'ajout de 50 µl de TTC suivit d'une incubation pendant 2 heures à 37°C, le TTC révèle la présence de bactéries vivantes par l'apparition d'une coloration rouge.



**Figure 25:** la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).  
 BMH : Bouillon Muller Hinton, HE : Huile essentielle, ATB : Antibiotique,  
 SB : suspension bactérienne.

### 9.3. La détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

L'activité bactéricide d'HE et d'ATB est réalisée selon la méthode décrite par **Bertella et al., (2018)**. La détermination de la CMB a été effectuée à partir de puits où la croissance bactérienne n'a pas été observée. Une aliquote de 10 µl a été prélevée de Chaque puits et ensemencée à l'aide d'une anse de platine stérile dans de l'agar MH, sont incubées pendant 18-24h à 37°C.

Le CMB a été défini comme étant la plus faible concentration d'HE / d'ATB qui inhibe totalement la croissance bactérienne, représentée par l'absence visible de colonies sur les boites pétri.

### 10. Etude de l'association «d'HE *Eucalyptus globulus* /Antibiotiques » par la méthode des disques

L'association entre les huiles essentielles et les antibiotiques (**Figure 26**) peut sembler être une bonne stratégie pour résoudre le problème de la résistance bactérienne; par l'obtention d'un spectre antibactérien plus large et ainsi par l'augmentation de la vitesse d'action bactéricide via une action de synergie (**Dense et Hidri, 2009**).

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'association HE/ATBs est celle de diffusion sur milieu solide préconisée par **Halawani, (2009)**.

- Sur la gélose MH préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne par la méthode d'écouvillonnage, (une souche par boîte) (**Figure 27**). Des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre ont été préparés, stérilisés puis déposés à la surface des boîtes ensemencées, (03 disques par boîte).

- Ensuite les disques sont chargés à l'aide d'une micropipette avec 6 µl de concentration mère de chaque ATB (AMP, AUG, GEN), additionnée ensuite de 6 µl d'HE.

- Les boîtes sont laissées une heure à température ambiante pour permettre la diffusion d'HE et d'ATB, puis elles sont incubées à 37°C pendant 18-24h.

- Après incubation le diamètre d'inhibition est mesuré en mm. Les données ont été analysées selon l'échelle décrite par **Laouar & Sifer., (2013)**:

• **Indifférence:** les deux zones d'inhibition de l'HE seule et de l'association HE/ATBs restent inchangées.

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

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



*L'ensemencement de la suspension bactérienne*



*Les disques chargés d'HE + ATB*



*Les boîtes préparées*



**Figure 26:** principe de la méthode des disques (l'association d'HE et ATB).

# *Chapitre 2*

## *Résultats et discussion*



## 1. Résultats et interprétations

### 1.1. Rendement

L'huile essentielle a été obtenue à partir de la plante d'*Eucalyptus globulus* par l'Hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger, elle a été séchée par l'ajout du sulfate de sodium (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). L'HE obtenue est de couleur orange et d'une forte odeur.

Le rendement d'*Eucalyptus globulus* a été calculé selon le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal, Les valeurs de rendement de notre huile essentielle sont regroupées dans le tableau suivant :

**Tableau 6:**Rendement de huile essentielle *Eucalyptus globulus*.

Extractions	1	2	3	4	5
Rendement (%)	1,87	1,79	1,81	1,88	1,85
Moyenne, écart type	1,84 ± 0,034				

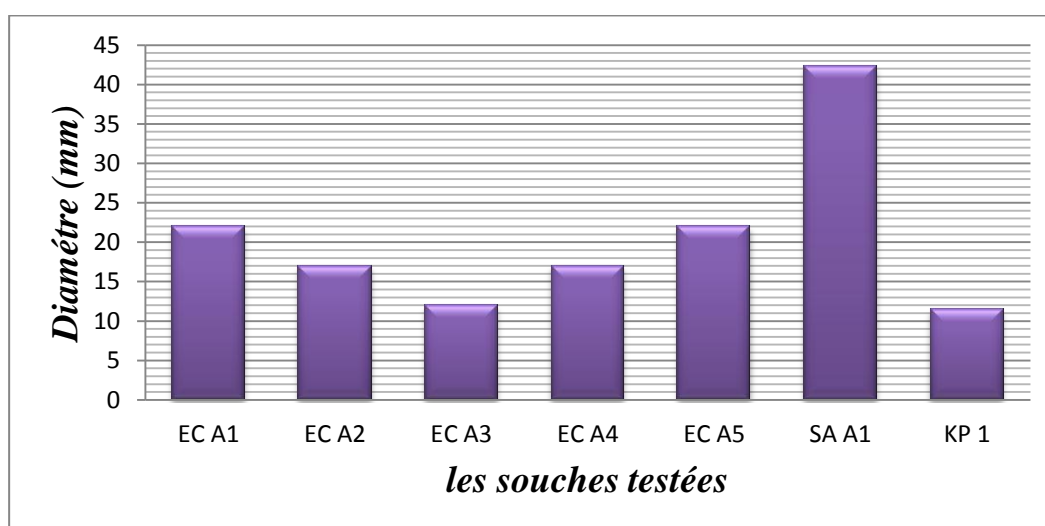
### 1.2. Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

L'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites a été évaluée vis-à-vis sept souches bactériennes *E. coli* (EC A1, EC A2, EC A3, EC A4, EC A5), *S. aureus* (SA A1) et *Klebsiella pneumoniae* (KP1), cette activité a été réalisée par la méthode d'aromatogramme et antibiogrammes (diffusion sur disques en milieu gélosé), pour vérifier qualitativement si le produit testé présentait un effet sur la croissance bactérienne et suivie par un deuxième test plus spécifique permettant d'évaluer quantitativement l'effet inhibitrice et bactéricide par la méthode des dilutions.

Le pouvoir antibactérien d'HE *Eucalyptus globulus*, est déterminé selon le diamètre de zone d'inhibition, les résultats sont présentés dans le tableau, l'histogramme et les figures ci-dessous :

**Tableau 7:** Diamètres des zones d'inhibition par méthodes d'aromatogramme.

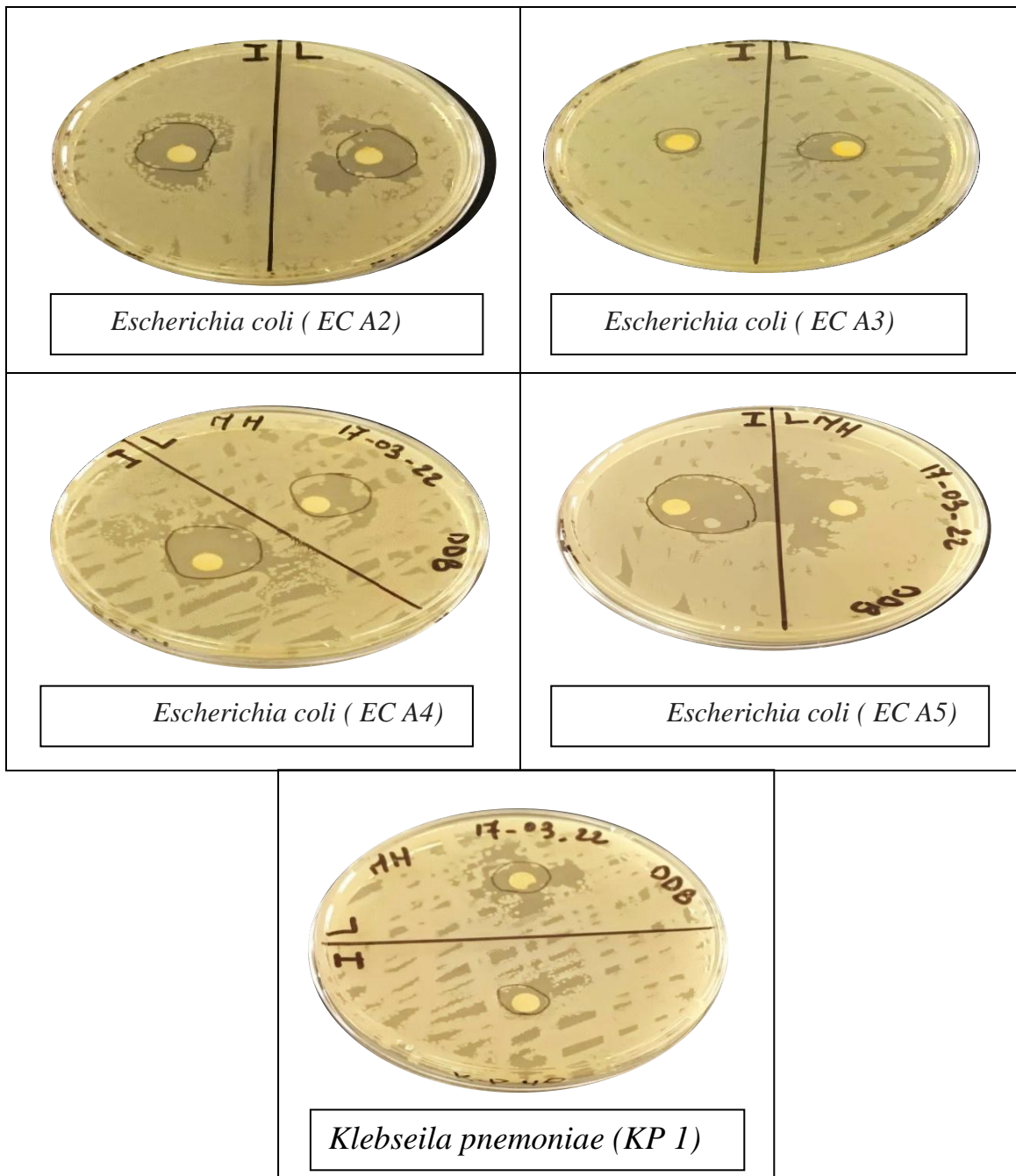
souche	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Observations
<i>EC A1</i>	22	Extrêmement sensible
<i>EC A2</i>	17	Très sensible
<i>EC A3</i>	12	Sensible
<i>EC A4</i>	17	Très sensible
<i>EC A5</i>	22	Extrêmement sensible
<i>SA A1</i>	42,25	Extrêmement sensible
<i>KP 1</i>	11,5	Sensible

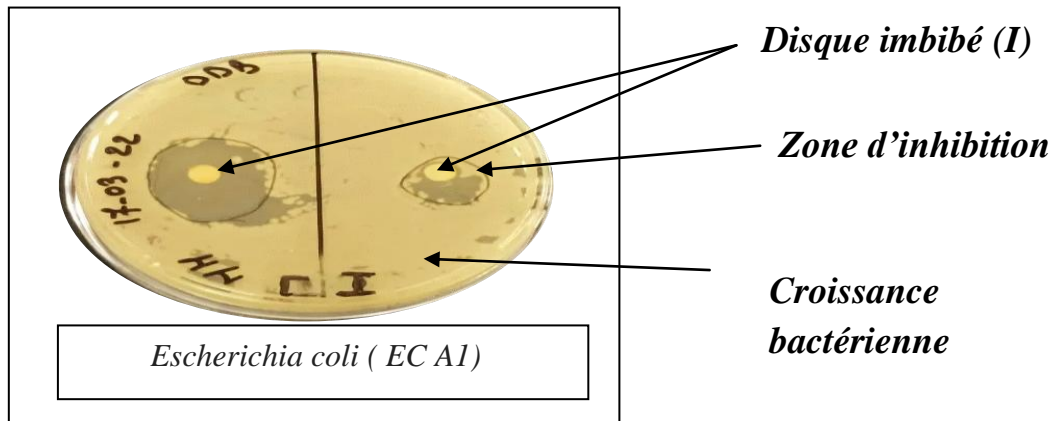
**Figure 27:** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance Bactérienne de chaque souche testée.

La sensibilité des souches bactérienne vis-à-vis des huiles essentielles est très variable, selon (Franchomme, 2001; Durrafourd, 2002) cette sensibilité permet de classer les bactéries en fonction du diamètre de la zone d'inhibition, alors on note que les souches la plus sensibles (Extrêmement sensible) *Staphylococcus aureus* (SAA1) et *E. coli* (ECA1 et ECA5) qui inhibée la croissance avec un diamètres de 42,25, 22, 22 mm respectivement, et les souches *E. coli* (ECA2 et ECA4) très sensible avec le diamètre de zone d'inhibition de 17 mm, et *E. coli* (ECA3) et *Klebsiella pneumoniae* (KP1) sont modérément sensibles en tenta compte des diamètres de la zone d'inhibition de 11,5 et 12 mm respectivement, cette échelle a été utilisée pour décrire la sensibilité des souches bactérienne vis à-vis nos huile essentielle étudiées.

**Tableau 8:** le degré de sensibilité bactérienne en fonction de diamètre des zones d'inhibitions (Labioud, 2016).

Diamètre de la zone d'inhibition	Sensibilité
$d \leq 8 \text{ mm}$	Non sensible (résistance)
d entre 9 mm et 14 mm	Sensible (+)
d entre 15 mm et 19 mm	Très sensible (+++)
$d \geq 20 \text{ mm}$	Extrêmement sensible (++++)





**Figure 28:** Résultats de l'aromatogramme par la méthode de diffusion sur disques.

Ont noté une absence de résistance de bactéries dans les souches (*EC A1*, *EC A2*, *EC A3*, *EC A4*, *EC A5*, *SA A1* et *KP 1*) à cette huile essentielle.

Finalement les résultats ont révélé que les bactéries Gram+ *Staphylococcus aureus* (*SA A1*) étaient plus sensibles de bactéries les Gram- *E. coli* (*EC A1*, *EC A2*, *EC A3*, *EC A4*, *EC A5*) et *Klebsiella pneumoniae* (*KP 1*).

### 1.3. Résultats de l'antibiogramme

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque. Et a été réalisé par l'utilisation de trois antibiotiques sur sept souches bactériennes *E. coli* (*EC A1*, *EC A2*, *EC A3*, *EC A4*, *EC A5*), *S. aureus* (*SA A1*) et *Klebsiella pneumoniae* (*KP 1*). Le pouvoir antibactérien de ces antibiotiques est déterminé selon le diamètre de zone d'inhibition, les résultats sont présentés dans le tableau, l'histogramme et les figures ci-dessous :

**Tableau 9:** Diamètres des zones d'inhibition par méthodes d'antibiogramme

Souche ATB	AMP	GEN	AUG
	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
<i>EC A1</i>	17	30	17
<i>EC A2</i>	37	27	23
<i>EC A3</i>	38	30	25
<i>EC A4</i>	14	28	0
<i>EC A5</i>	11	22	7
<i>SA A1</i>	40	40	40
<i>KP 1</i>	7	26	0

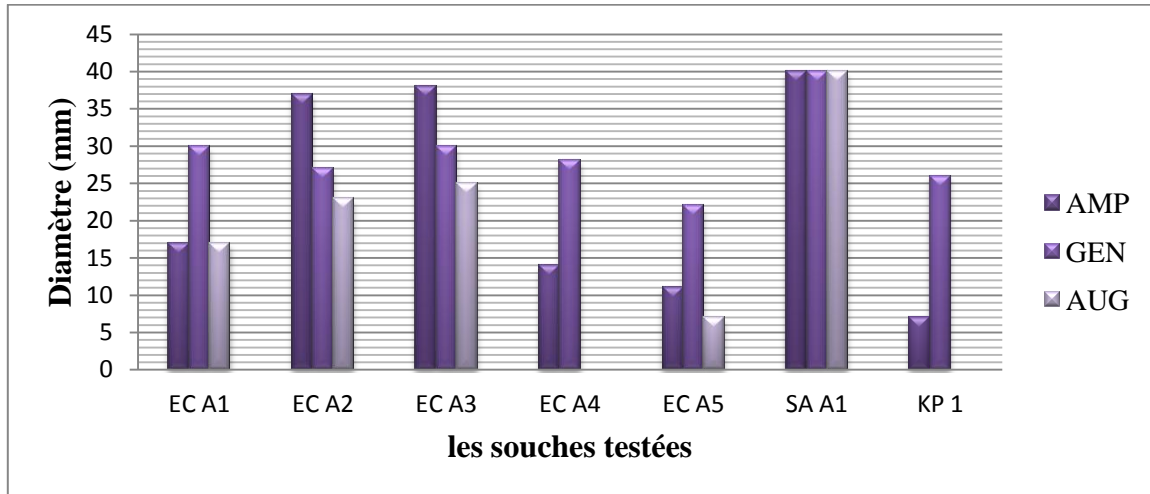
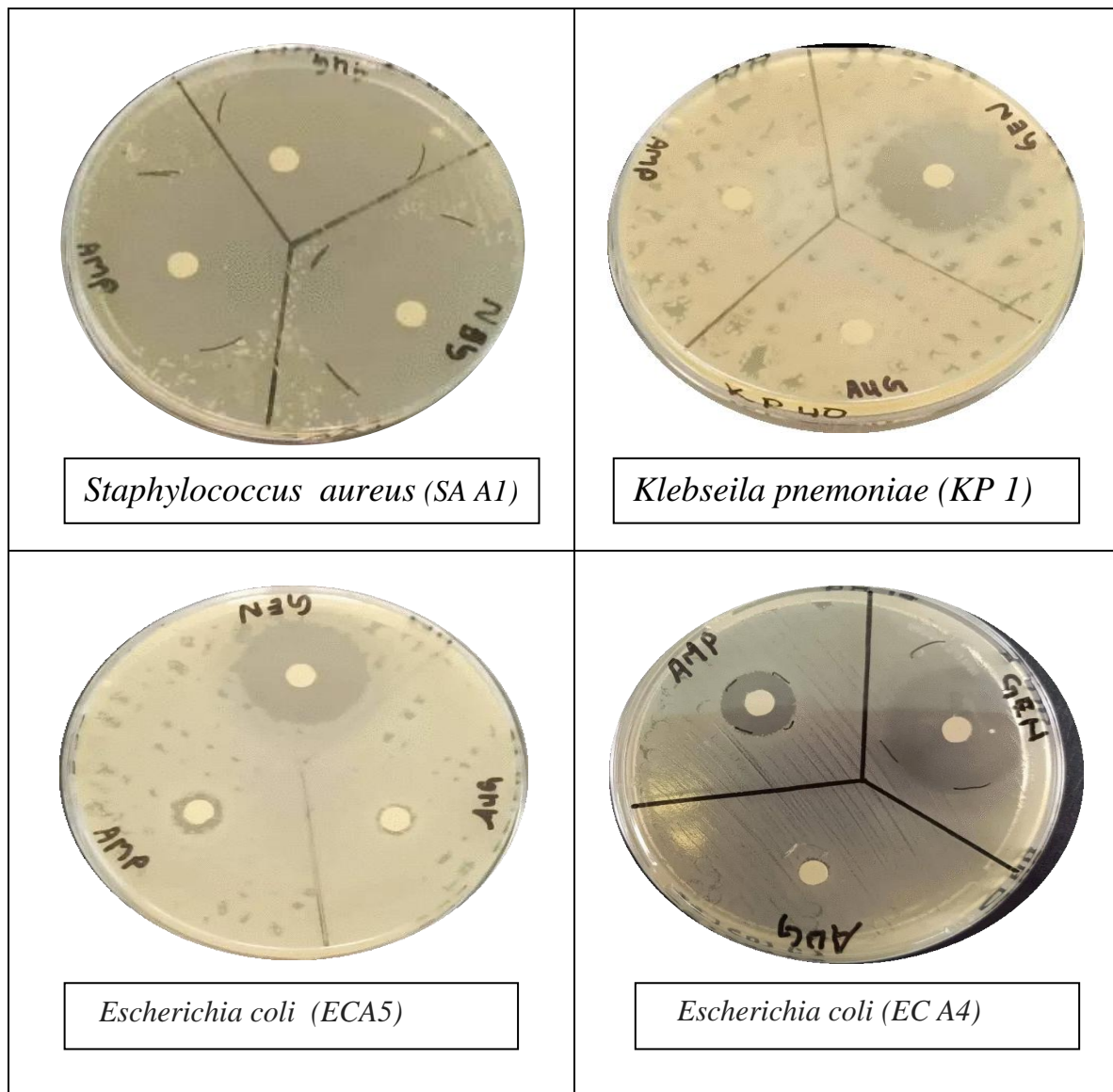
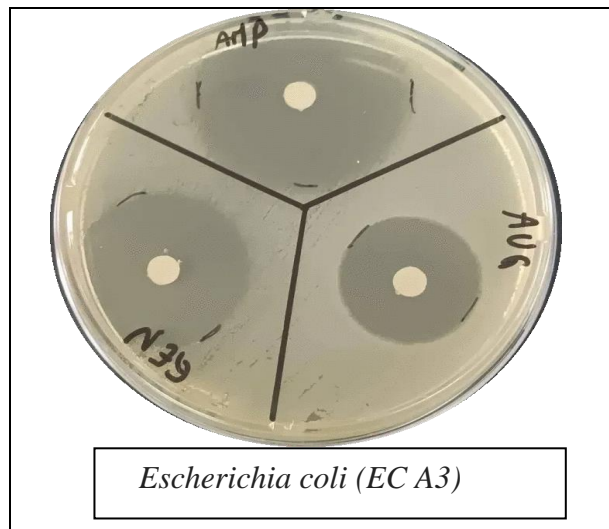


Figure 29: Diamètres des zones d'inhibition de trois d'antibiotiques de chaque souche testé.





**Figure 30:** les Zones d'inhibition par méthode de diffusion sur disques.

Ces résultats montrent une forte activité inhibitrice de la majorité des antibiotiques utilisés vis-à-vis des bactéries testées.

Les souches d'*E. Coli* (*ECA1*, *ECA2*, *ECA3*, *ECA4*, *ECA5*) et, *S. aureus* (*SAA1*) sont sensibles à l'AMP avec une zone d'inhibition de 11 à 14 mm. Très sensible dont le diamètre de la zone d'inhibition est de 17 mm. Extrêmement sensible dont le diamètre de la zone d'inhibition de 37 à 40 mm. Par contre la souche *Klebsiella pneumoniae* (*KP1*) est résistante à l'AMP par une zone d'inhibition de 7 mm.

Toutes les souches testées, *E. coli* (*EC A1*, *EC A2*, *EC A3*, *EC A4*, *EC A5*), *S. aureus* (*SAA1*) et *Klebsiella pneumoniae* (*KP1*) sont Extrêmement sensible à la GEN par une zone d'inhibition allant de 22 à 40 mm.

Quant à la souche *E. coli* (*EC A1*) sont très sensible à l'AUG par une zone d'inhibition de 17 mm, *S. aureus* (*SAA1*) et *E. coli* (*EC A2*, *EC A3*) extrêmement sensible la zone d'inhibition égale 40, 23, 25 mm respectivement. Par contre, les souches *E. coli* (*EC A4*, *EC A5*) et *Klebsiella pneumoniae* (*KP1*) résistants à l'AUG avec le diamètre de la zone d'inhibition égale 0 à 7 mm

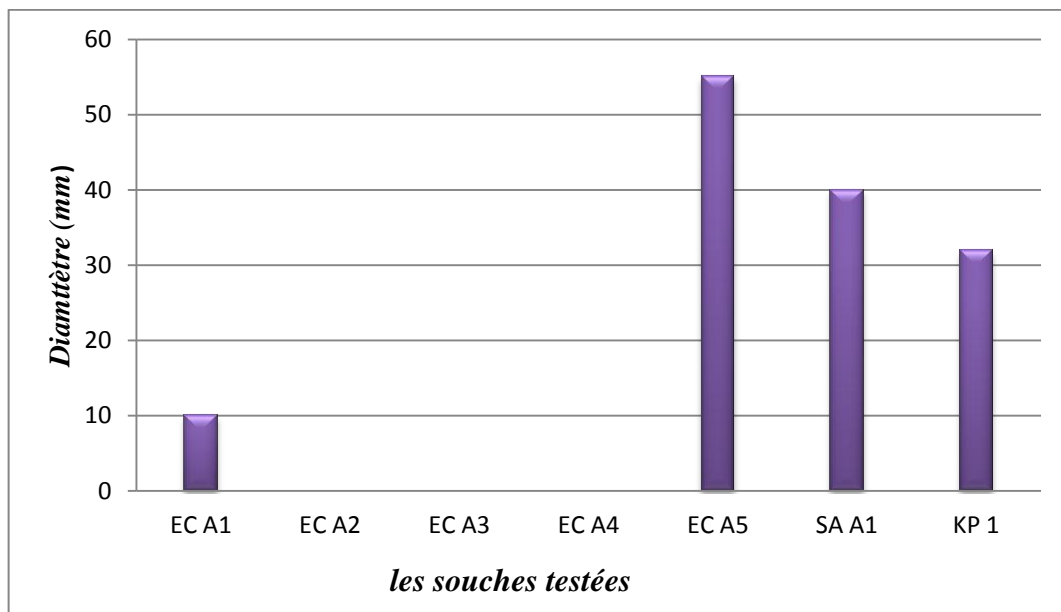
Les résultats ont révélé que les bactéries Gram+ (*Staphylococcus aureus* (*SAA1*)) sont plus sensibles que les Gram- *E. coli* (*ECA1*, *ECA2*, *ECA3*, *ECA4*, *ECA5*) et *Klebsiella pneumoniae* (*KP1*).

#### 1.4. Méthode de micro-atmosphère

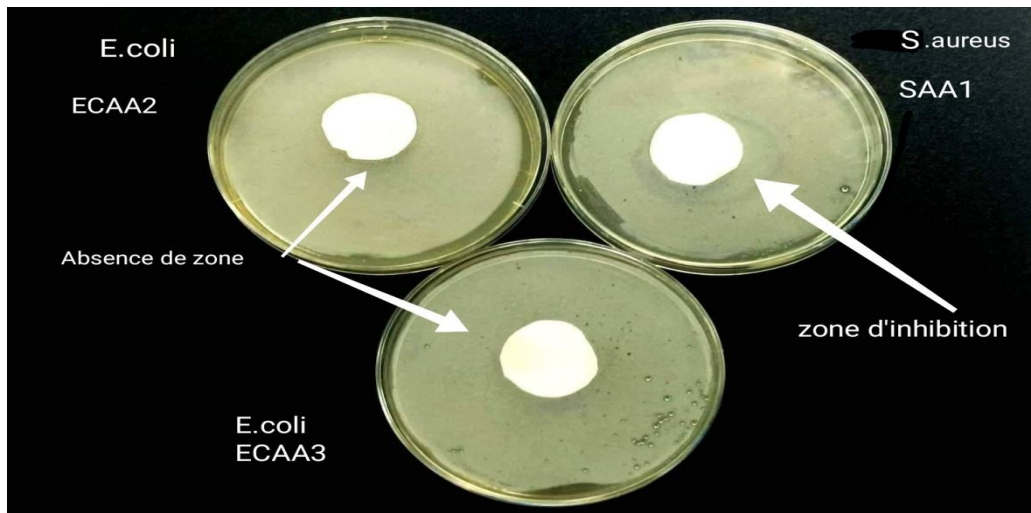
La technique de la micro-atmosphère a été appliquée pour démontrer l'activité antibactérienne de la fraction volatile des huiles essentielles. Les souches testées dans cette méthode sont des souches présentant une sensibilité importante dans la technique de diffusion sur disque. Nos résultats regroupés dans le tableau, l'histogramme et les figures suivants :

**Tableau 10:** Diamètres des zones d'inhibition par méthodes de micro atmosphère.

souche	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>EC A1</i>	10
<i>EC A2</i>	0
<i>EC A3</i>	0
<i>EC A4</i>	0
<i>EC A5</i>	55
<i>SA A1</i>	40
<i>KP 1</i>	32



**Figure 31:** histogramme des diamètres des zones d'inhibition de la croissance.



**Figure 32:** les Zones d'inhibition par la méthode de micro-atmosphère.

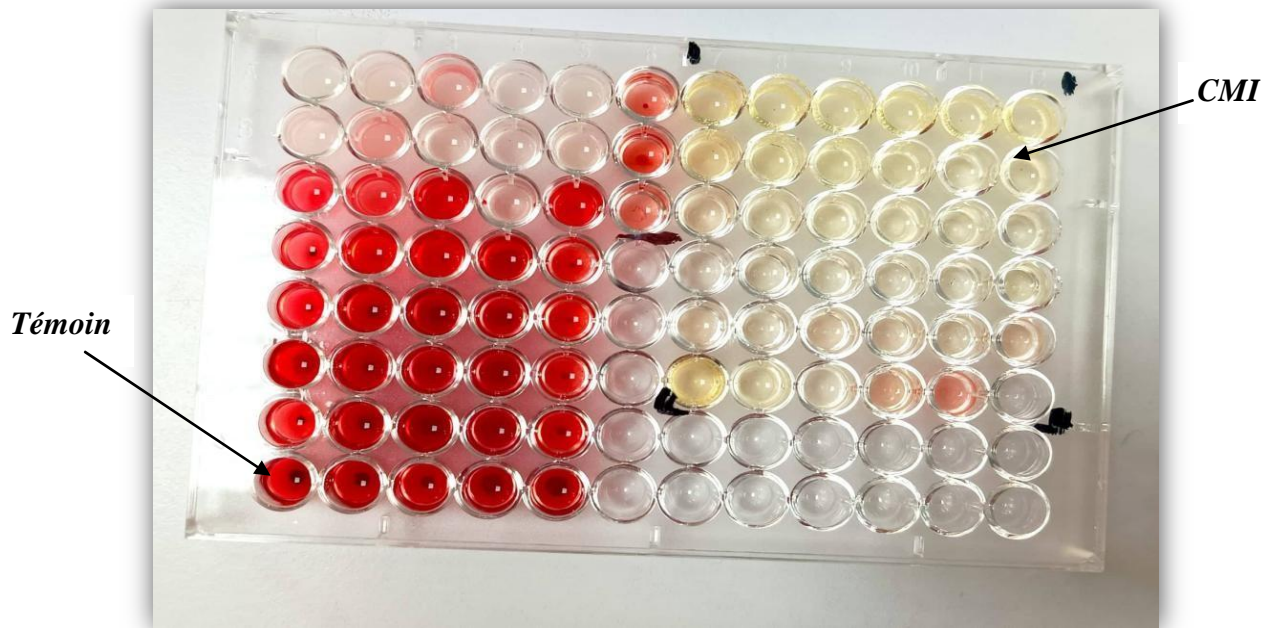
L'huile d'*Eucalyptus globulus* a montré son efficacité sur la plupart de souches telles que *E. coli* (EC A5), *Klebsiella pneumoniae* (KP 1), *E. coli* (EC A1), avec un diamètre de 55, 32, 10 mm respectivement. et à *Staphylococcus aureus* (SA A1) avec un diamètre de 40 mm.

Par contre les autres souches de l'espèce *E. coli* (*EC A2*, *EC A3*, *EC A4*) ont présenté une résistance à l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par l'absence de la zone d'inhibition.

## 1.5. Détermination de CMI et CMB

### 1.5.1. Détermination de CMI

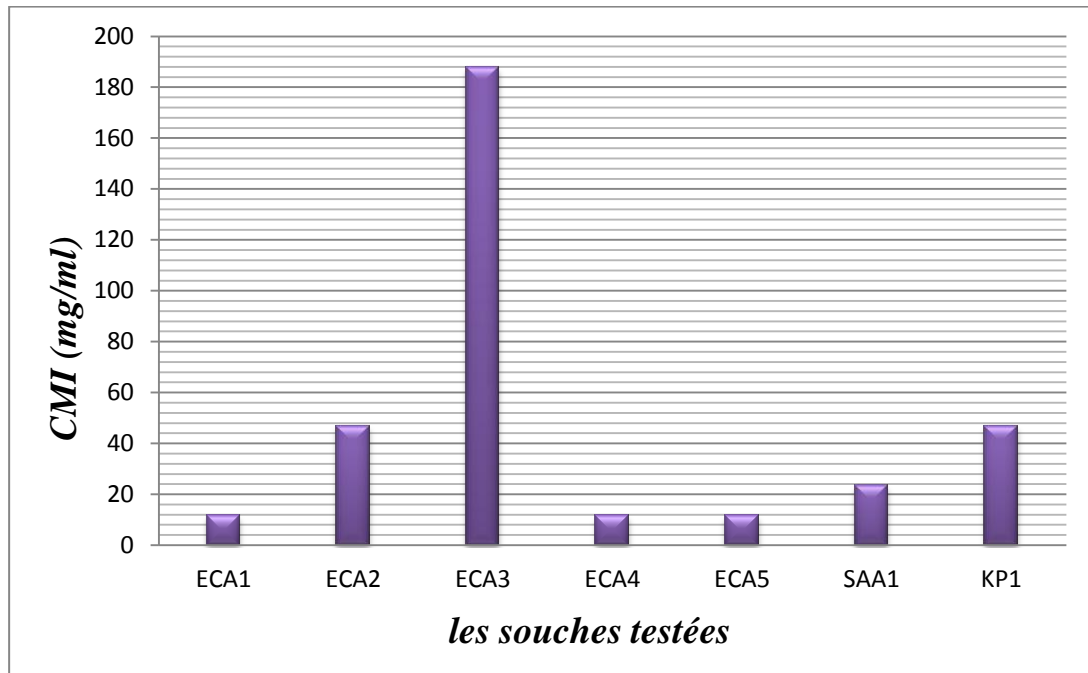
La CMI (Concentration Minimale Inhibitrice), est définie comme étant la plus faible concentration permettant d'inhiber aucune croissance visible à l'œil nu par rapport au puits de témoin. Les résultats sont regroupés dans le tableau, l'histogramme et la figure suivants :



**Figure 33:** Lecture de la CMI de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur les souches bactériennes testées.

**Tableau 11:** Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) d'HE.

Souche	<i>Eucalyptus globulus</i>	
	CMI ( $\mu\text{l/ml}$ )	CMB ( $\mu\text{l/ml}$ )
<i>EC A1</i>	1,71	2,43
<i>EC A2</i>	46,87	9,75
<i>EC A3</i>	187,5	93,75
<i>EC A4</i>	11,71	> 187,5
<i>EC A5</i>	11,71	> 187,5
<i>SA A1</i>	23,43	23,43
<i>KP 1</i>	46,87	46,87



**Figure 34:** la CMI de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur les souches bactériennes testées.

A la lumière des résultats obtenus, nous constatons une grande variabilité de l'activité inhibitrice contre toutes les souches testées. On note principalement que l'HE d'*Eucalyptus globulus* est très actif sur les souches *EC A1*, *EC A4*, *EC A5* avec une faible CMI de 11,71  $\mu\text{l/ml}$ , alors qu'elle a inhibé la croissance des souches *EC A3*, *EC A2*, *KP 1*, *SA A1* avec des concentrations minimales inhibitrices de 187,5, 46,87, 46,87, 23,43  $\mu\text{l/ml}$  respectivement.

### 1.5.2. Détermination de la CMB

La gélose MH a étéensemencée à partir des puits qui n'ont montré aucune croissance bactérienne (absence de coloration) afin de déterminer les concentrations minimales bactéricides. Les résultats sont résumés dans la figure et l'histogramme suivant:

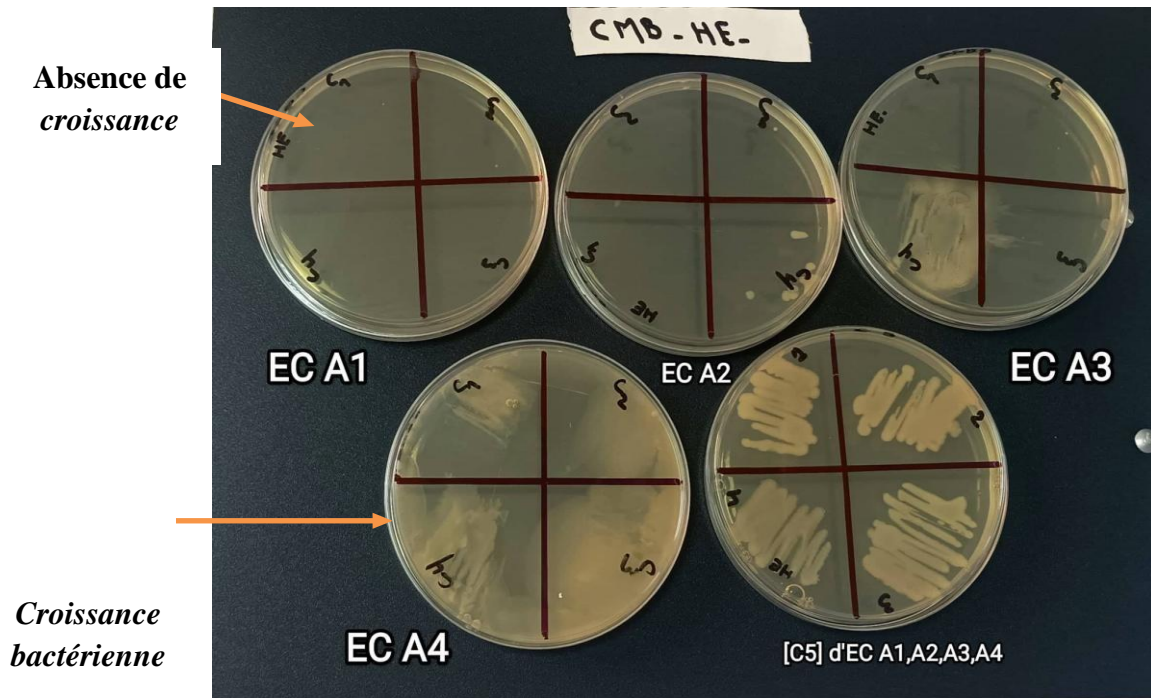


Figure 35: le lecteur de CMB d' *Eucalyptus globulus* sur les souches bactériennes testées.

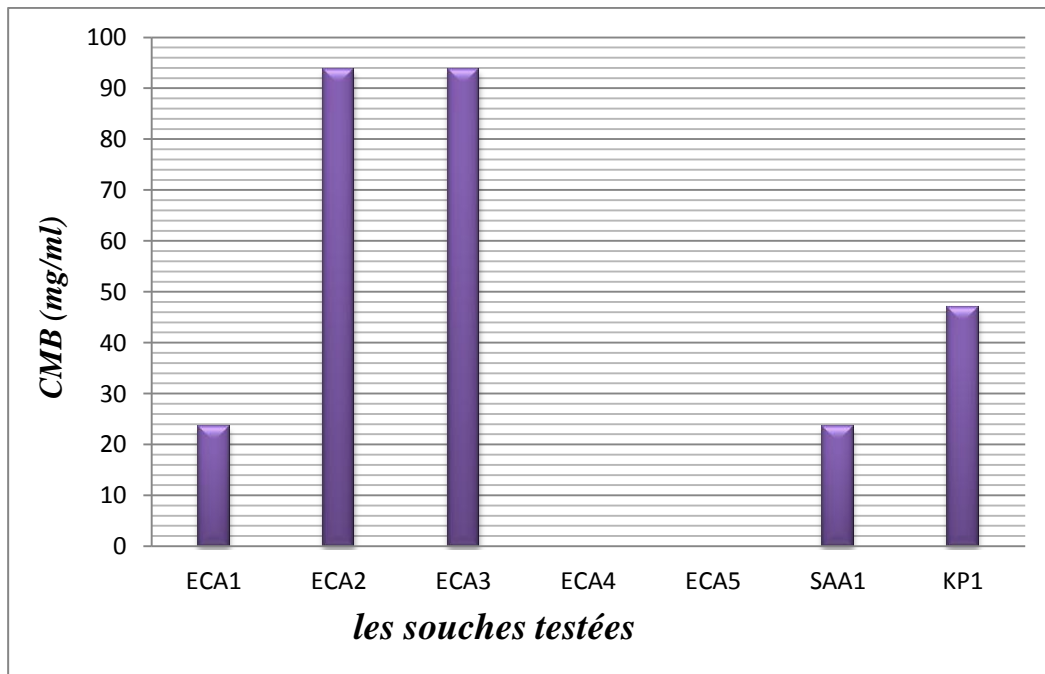


Figure 36: Histogramme de la CMB d' *Eucalyptus globulus* sur les souches bactériennes testées.

### 1.6. Détermination de CMI et CMB des ATBs

Les résultats de CMI et CMB des ATBs sont regroupés dans le tableau suivant :

Les résultats obtenus révèlent une meilleure activité bactéricide d'HE *Eucalyptus globulus* sur *EC A1*, *SA A1* avec une concentration de 23,43 µl/ml. Et une activité moyenne sur *KP1* avec de concentration 46,87 de µl/ml et une faible activité sur *EC A3*, *EC A2* avec de concentration 93,75 µl/ml.

**Tableau 12:** Tableau récapitulatif des résultats de CMI et CMB d'ATBs.

souche	AUG		GEN		AMP	
	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMI (µl/ml)	CMB (µl/ml)	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)
<i>EC A1</i>	> 3	> 3	> 300	> 300	7,81	7,81
<i>EC A2</i>	> 3	> 3	> 300	> 300	1,95	1,95
<i>EC A3</i>	>3	>3	> 300	> 300	0,24	0,97
<i>EC A4</i>	0,375	0,375	37,5	37,5	31,25	>125
<i>EC A5</i>	> 3	> 3	> 300	> 300	15,62	15,62
<i>SA A1</i>	> 3	> 3	> 300	> 300	31,25	31,25
<i>KP 1</i>	0,375	3	> 300	> 300	62,5	>125

Les résultats obtenus ont présenté des activités inhibitrices et bactéricides d'ATBS très variables sur les souches étudiées.

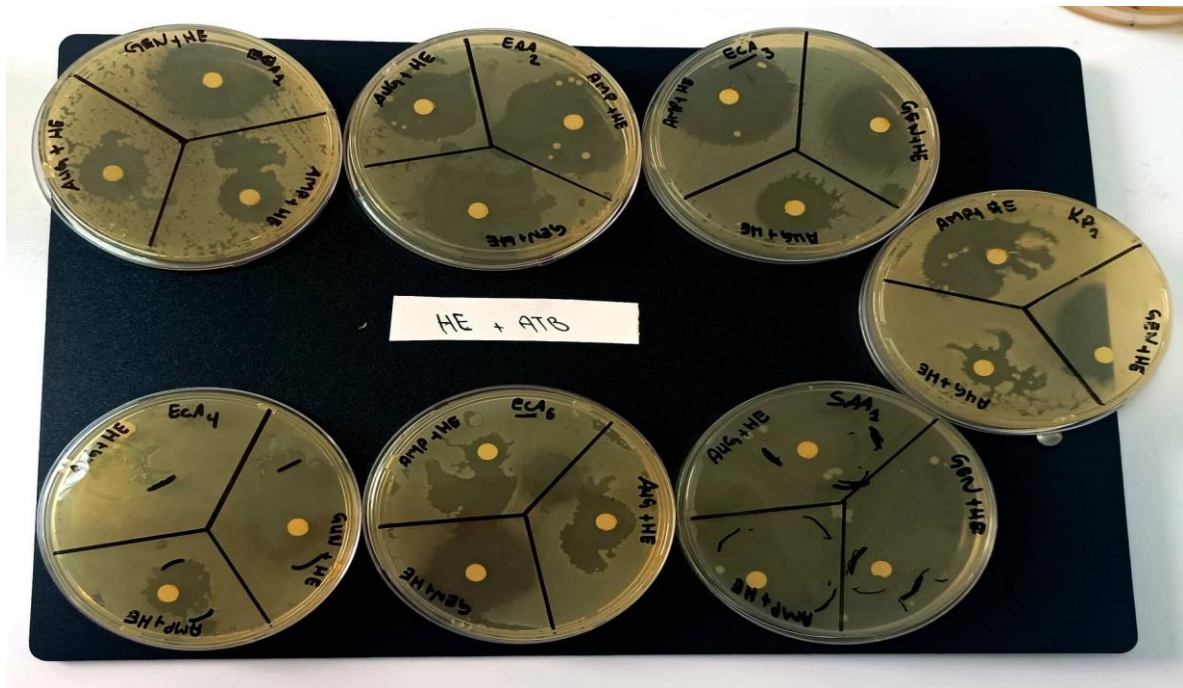
Concernant l'AMP La concentration minimale inhibitrice (CMI) la plus élevée de 62,5 mg/ml est observée pour *Klebsiella pneumoniae* (KP 1), et des concentrations moyennes de 31,25, 31,25, 15,56 mg/ml observées pour *EC A4*, *SA A1*, *EC A5*, respectivement, alors que la plus faible concentration de 0,24 mg/ml est notée pour *EC A3*.

L'AUG n'a montré que son activité inhibitrice et bactéricide sur la souche *EC A4* par une faible concentration inhibitrice et bactéricide de 0,375 mg/ml, ainsi qu'une faible CMI de 0,375 mg/ml pour *KP 1*.

La GEN aussi n'a présenté qu'une activité inhibitrice et bactéricide sur la souche *EC A4* par une concentration bactéricide élevée de 37,5 µl/ml.

### 1.7. Etude de l'association «HE/ATBs » par la méthode des disques

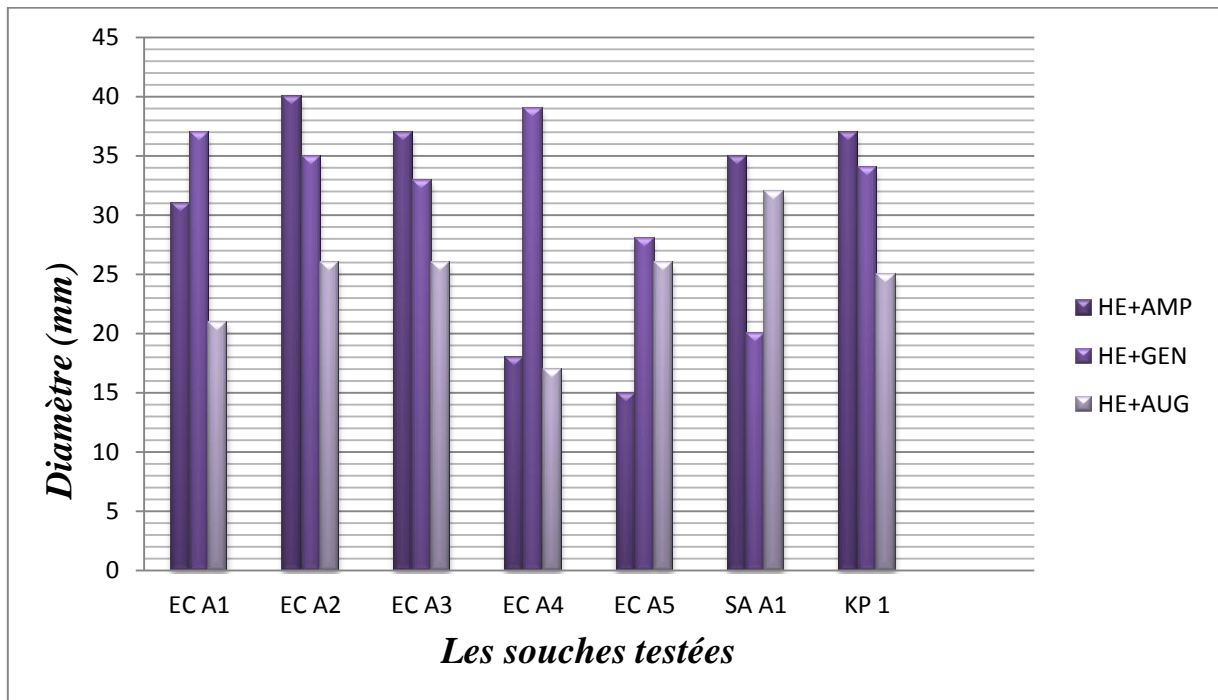
L'étude d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'association (HE+ATB), a été faite selon la méthode décrite par (Halawani, 2009). dans le but de tester la sensibilité des 07 souches bactériennes par la mesure des diamètres des zones d'inhibition en mm. Les diamètres des zones d'inhibition ainsi que la sensibilité ou des souches bactériennes vis-à-vis de l'association utilisée sont résumés dans les figures, le tableau et l'histogramme suivant :



**Figure 37:** Effet d'association d'HE *Eucalyptus globulus* aux ATBs sur la croissance de bactéries testées.

**Tableau 13:** Diamètres des zones d'inhibition des bactéries testées vis-à-vis d'effet d'association d'HE aux ATBs.

Souche	HE+ AMP	HE+ GEN	HE+ AUG
	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
EC A1	31	37	21
EC A2	40	35	26
EC A3	37	33	26
EC A4	18	39	17
EC A5	15	28	26
SA A1	35	20	32
KP 1	37	34	25



**Figure 38:** Histogramme de diamètres des zones d'inhibitions d'association d'HE *Eucalyptus globulus* aux ATBs sur la croissance de bactéries testées.

Les résultats obtenus révèlent une efficacité très remarquable, puisque la plupart de souches testées dans cette étude présentent une sensibilité très élevée aux associations (HE+ATB) utilisées. On observe que les diamètres de la zone d'inhibition les plus importants ont été remarqués sur les souches d'*Escherichia coli* (EC A2, EC A4, EC A1, EC A3), par l'action antibactérienne de l'association de (HE +AMP), (HE +GEN), (HE +GEN), (HE+GEN), avec des valeurs de 40, 39, 37, 37 mm, et sur la souche de *Klebsiella pneumoniae* (KP 1), sous l'action d'association (HE +AMP), avec D=37mm. Puis sur *Staphylococcus aureus* (SA A1) sous l'action d'association d'HE +AMP, avec D=35mm. Par contre la faible valeur de diamètre de 15 mm a été remarquée sur *Escherichia coli* (EC A5), sous l'action antibactérienne d'association de (HE +AMP).

## 2. Discussion

### ▪ Rendement

Dans notre travail, le rendement en huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est de 1,84 %, cette valeur est étroitement proche de celle trouvée par Damjanović-Vratnica<sup>1</sup>, (2011) qui est de 1,8 %, alors qu'elle est faible par rapport de celle trouvée par Benarab, (2021), qui est de 1,95 % Et aussi celle trouvée par Mokaddem, (2012), qui est de 2,5%.

Notre rendement est beaucoup plus important par rapport à celui trouvé par Maalem et Rafea, (2019) qui est de (0,24 %), Fechtal, (2002) qui est es de 0,98 %, Raho, (2012) qui est de 1,2 % et Djelloul et Mokrani, (2017) qui est de 0,132 %

Cette différence de rendement en HE peut être due à la période de récolte, car il y a des plantes cueillies au stade de la floraison, où le rendement a été supérieur à celui des plantes récoltées avant la floraison Merghache *et al.*, (2009). D'autres facteurs aussi influencer le rendement comme l'origine botanique, la position géographique, le mode de la culture, le mode d'extraction de l'HE, la spécificité biochimique et les conditions environnementales (climat et sol) (Tolba, 2017).

### ▪ Méthode de diffusion sur disque

Les essences végétales issues d'*Eucalyptus globulus* sont utilisées comme des agents naturels dans la conservation des aliments et aussi connues pour leur usage thérapeutique en médecine traditionnelle grâce à leur effet antibactérien sur les microorganismes tels que *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* (Kozioł, 2015).

Les résultats observés pour notre huile essentielle d'*E. globulus* sur les souches d'*E. coli* (*EC A1*, *EC A2*, *EC A3*, *EC A4*, *EC A5*) à 22, 17, 12, 17, 22 mm respectivement, sur la souche *Staphylococcus aureus* à 42,25 mm et sur *Klebsiella pneumoniae* à 11,5 mm, sont semblable à ceux montrés par Cermelli *et al.*, (2008), pour l'huile essentielle d'*E. globulus* sur la souche à gram positif (*Staphylococcus aureus*) de diamètre à 42 mm, et sur les souches à gram négatif (*E. coli*) pour des diamètres de 19, 14, 15, 22 mm respectivement et sur la souche *Klebsiella pneumoniae* de diamètre à 11 mm. Elle atteste d'une activité antibactérienne importante surtout contre la bactérie *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de notre étude ont mis en évidence une forte activité antibactérienne de l'huile essentielle testée, contre des souches de *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

Les diamètres d'inhibition enregistrés pour notre huile essentielle d'*E. globulus* à l'état pur dépassent également ceux trouvés par Boukhebt *et al.*, (2011) pour un diamètre de (9-10 mm) et de Silva *et al.*, (2013) (15,33-24,33 mm) sur la souche *Staphylococcus aureus*.

Les résultats d'aromatogramme obtenus montrent que les souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*), sont très sensible à l'HE *Eucalyptus globulus* par rapport aux résultats obtenus par Mahboubi *et al.*, (2008) qui ont trouvé que les souches à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*), sont résistantes à l'HE *Eucalyptus globulus*.

Cette différence de résultat peut être principalement liée aux composés majoritaires présents dans l'HE (Nezhad *et al.*, 2009). Ainsi que par la différence de protocoles employés dans chaque étude (densité optique de l'inoculum, quantité d'huile utilisée, diffusion en puits ou en disques en papier ... etc.).

D'après nos résultats, il apparaît que les trois ATBs inhibent la croissance de *S. aureus* (SAA1) avec des degrés de sensibilité très élevés (40 mm de diamètre), par rapport aux souches de *E. coli* (ECA1, ECA2, ECA3, ECA4, ECA5) et *Klebsiella pneumoniae* (KP1), pour des valeurs allant de (0 à 38 mm), ceux qui ne concordent avec ceux trouvé par Bouzouita *et al.*, (2008) ; Hammer *et al.*, (2002); Souza *et al.*, (2006); Derwich *et al.*, (2010) et Bari *et al.*, (2010) ; qui ont confirmé la grande résistance des bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) par rapport aux à gram positif (*Staphylococcus aureus*).

#### ▪ Méthode de micro-atmosphère

Nos résultats de l'activité antibactérienne par la méthode de micro-atmosphère de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur la souche de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de (40 mm), qu'ils sont moins important par rapport aux résultats de Boukhatem *et al.*, (2014) le diamètre égal (66 mm) avec l'HE *Eucalyptus globulus*, et sont similaires à une étude antérieure réalisé par Bertella, (2019) mais avec une autre HE (*Artemisia Herba alba*), avec un diamètre d'inhibition de (40 mm), et également les résultats alors qu'ils sont moins important que ceux rapporté par Mouhi, (2017) là où le diamètre d'inhibition de *Staphylococcus aureus* est de (35 mm) pour l'HE de *Thymus fontanesii*.

D'autre part les souches d'*E. coli* (EC A2, ECA3, ECA4) étaient résistantes dans notre travail, alors que dans l'étude de Mouhi, (2017) elles se sont montrées sensibles par un diamètre de (22 mm). notre résultat de la souche EC A5 (55 mm) était peu proche à les résultats trouvé dans l'étude réalisée par Boukhatem *et al.*, (2014) par un diamètre de (42 mm) avec l'HE *Eucalyptus globulus* pour l'espèce *Klebsiella pneumoniae* ont observé que le diamètre d'inhibition était (32 mm) proche aux résultats de Bertella, (2019) avec un diamètre de (32 mm) mais avec l'HE d'*Artemisia Herba-alba*.

### ▪ Détermination de la CMI et CMB de l'huile essentielle et des antibiotiques

Nos résultats de la détermination de la CMI et de la CMB, a montré que l'HE *Eucalyptus globulus* à un effet bactériostatique sur les souches d'*E. Coli* (EC A1, EC A2, EC A3, EC A4, EC A5) à 11,71, 46,87, 187,5, 11,71, 11,71 mg/ml respectivement, sur la souche *Staphylococcus aureus* à 23,43 mg/ml et sur *Klebsiella pneumoniae* à 64.87 mg/ml. et à un effet bactéricide sur les souches d'*E. Coli* (EC A1, EC A2, EC A3) à 23,43, 93,75, 93,75 mg/ml respectivement et sur la souche *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* à 23,43, 46,87 mg/ml respectivement.

Nos résultats de CMI d'HE *Eucalyptus globulus*, sur les souches d'*E. Coli* (EC A1, EC A4, EC A5) qui ont été inhibée à 11,71 mg/ml étaient similaires à ceux trouvés par Ait-Ouazzou *et al.*, (2011) sur *E. coli* qui a été inhibée à 10 mg/ml, par contre par rapport à ce qui a été trouvé nos résultats sur les autres souches testées (EC A2, EC A3, SA A1 et KP 1) étaient trop élevés.

Et concernant les résultats de CMB sur les souches EC A1 et *Staphylococcus aureus* (SA A1), qui ont été inhibée à 23,43 mg/ml était presque similaire pour les résultats trouvés par Ait-Ouazzou *et al.*, (2011) sur les souches d'*E. Coli* et *Staphylococcus aureus* et qui ont été inhibée à 30 mg/ml, par contre Nos résultats de CMB sur les souches (EC A2, EC A3, et KP 1) qui ont été inhibée à 93,75, 93,75, 46,87 mg/ml respectivement sont plus importants par rapport à ce qui a été trouvé par ce dernier.

Les résultats de CMI obtenus sur les souches d'*E. Coli* (EC A1, EC A4, EC A5) était faible par rapport aux résultats obtenus par Mekonnen *et al.*, (2016) pour la souche d'*E. coli* qui a été inhibée à 23,25 mg/ml. Mais nos résultats sur *Staphylococcus aureus* (SA A1) étaient trop élevés par rapport à ce qui a été trouvé sur *Staphylococcus aureus* qui ont inhibée à 15,75 mg/ml.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'HE *Eucalyptus globulus* sont plus élevés que celle obtenues par Mulyaningsih *et al.*, (2010) pour *E. coli* et *Staphylococcus aureus* qui ont été inhibée à 8 et 0,25 mg/ml respectivement, et elles sont plus élevées aussi que celle obtenus par Pharma, (2015) pour *Staphylococcus aureus* (3160) et *Klebsiella pneumoniae* (4030) qui ont été inhibées à 0,74 , 2,75 mg/ml respectivement. Alors que les résultats de CMI et CMB d'HE *Eucalyptus globulus* obtenu par Cermelli *et al.*, (2008) sont plus élevées que nos valeurs pour *Staphylococcus aureus* qui ont été inhibée à 50 mg/ml.

En comparant nos résultats de CMI et CMB des ATBs à ceux trouvés par Jehl et Cattoen (2020), la CMI d'AUG qui ont été inhibée à 4 mg/ml, sont plus élevées que nos valeurs pour *E. Coli* (EC A4) et *Klebsiella pneumoniae* qui ont été inhibée à 0,375 mg/ml. Et la CMI de GEN qui est de 0,5 mg/ml était moins importants à la CMI de notre souche EC A4 qui a été inhibée à 37,5 mg/ml.

Les résultats obtenus par Duval *et al.*, (1973) sont similaires à nos résultats de CMI et CMB d'AUG et de GEN qui n'ont aucune activité inhibitrice et bactéricide sur les souches *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*. A noter aussi que les mêmes résultats trouvés par Barreto *et al.*, (2014), chez la GEN qui n'a aucune activité inhibitrice sur *E. coli*.

#### ▪ La combinaison d'HE/ATBS

Les résultats montrés dans les figures et les tableaux précédents, montrent que l'effet antibactérien varie selon la combinaison, la concentration et la souche bactérienne cible.

Les 04 types d'interactions d'association entre deux agents indiqués par Chabenat, (2017) nous ont permis de faire une comparaison entre l'activité antibactérienne d'HE et D'ATB seule et de l'effet antibactérien de chaque association (HE /ATBs).

Les résultats obtenus ont montré que la plupart des associations HE /ATBs a un effet d'Antagonisme parce que: l'effet d'HE et l'ATB seule est plus important que celui de la combinaison d'HE/ATB (**Effet [HE+ATB] < Effet [HE] + Effet [ATB]**), et donc on note une diminution considérable de l'effet antibactérien dû à cette combinaison.

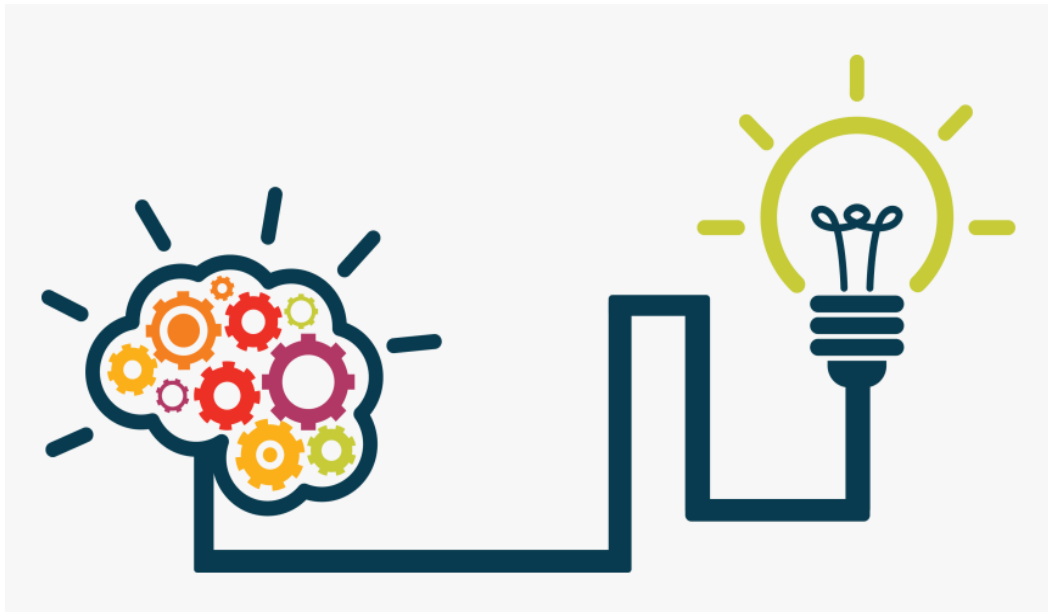
En comparant nos résultats a ceux trouvés par Halawani, (2009), qui ont montré aussi que l'utilisation de *Thymoquinone* et de *Thymohydroquinone* de *Nigella sativa*, associées à la cephalexine donne des interactions synergiques contre la souche *E. coli* (Gram-), ces mêmes composés ont montré des effets antagonistes ou indifférents en association avec d'autres antibiotiques. La combinaison de l'HE de *Rosmarinus officinalis* provenant de la Turquie avec la cephaloxitine et le ceftriaxone étudiée par Toroglu, (2011), a montré également des effets antagonistes sur *E. coli*.

Dans notre travail, sauf sur la souche *Klebsiella pneumoniae* (KP1), l'association HE /AMP et HE/AUG a un effet Synergique parce que : (**Effet [HE+AUG] > Effet [HE] + Effet [AUG]**). Une augmentation considérable de l'effet antibactérien dû à cette combinaison. D'après Wagner et Ulrich-Merzenich, (2009), L'effet synergique est une interaction positive créée quand l'association des deux agents, provoquent un effet supérieur à la somme de leurs effets individuels, est produit quand les constituants du mélange agissent sur des cibles différentes.

L'effet synergétique résultant de la combinaison des antibiotiques avec les HEs est souvent étudié par plusieurs auteurs. Nos résultats étaient similaires à ceux trouvés par El Atki *et al.*, (2019), qui ont démontré que l'huile essentielle de cannelle (*Cinnamomum cassia*), aussi, exerce des effets synergiques avec l'ampicilline ou le chloramphénicol, contre une souche multi-résistante de *S. aureus*. Ils sont aussi similaires à ceux trouvés par Kwiatkowski *et al.*, (2018), qui ont trouvé que la combinaison de l'HE de menthe et de carvi à la gentamicine montre un effet synergique sur *Klebsiella pneumoniae*. Ils sont aussi similaires à ceux trouvés par Betoni *et al.*, (2006), qui ont observé des interactions synergiques entre les extraits de quelques plantes médicinales brésiliennes et huit antibiotiques sur la souche de *S. aureus*. De même Darwish *et al.*, (2002), ont démontré que l'efficacité de la gentamicine et du chloramphénicol contre les *Staphylocoques dorés* a été considérablement améliorée en association avec des extraits de Plantes. On a noté chez *Escherichia coli* (EC A4), que l'association HE/AUG a un effet Additive parce que: **Effet [HE+AUG]= Effet [HE] + Effet [AUG]**, ces résultats sont semblables à ceux de Rosato *et al.*, (2007), qui ont montré un effet additive entre l'huile essentielle de *C. hirtus* et les deux antibiotiques gentamicine et la ceftazidime sur la souche de *S. aureus* ATCC 25923 et une action indépendante entre l'HE de *C. hirtus* et les deux antibiotiques gentamicine et la ceftazidime sur la souche de *E. coli* ATCC 25922. Aussi nos résultats de l'association d'HE avec AUG sur la souche EC A4 ont montré un effet indifférent par ce que l'effet d'association est le même que l'effet de HE d'*Eucalyptus globulus* employée seule, ces résultats semblables à ceux de Chalal et Salmi, (2018). Qui a trouvé que l'effet donné par la combinaison d'ampicilline (AML 30) avec l'huile essentielle de *Mentha x piperita* L. Est presque le même que l'effet de l'antibiotique employé seul.

L'absence de l'effet synergique lors de l'association, peut s'expliquer par l'interaction entre les différents composés qui peut conduire à des changements de conformation structurale au niveau de la paroi cellulaire des bactéries, conduisant ainsi à la réduction de l'activité inhibitrice (Arrigo *et al.*, 2010).

# *Conclusion et perspectives*



### Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques et surtout la demande accrue des consommateurs traitements plus naturels, là où l'aromathérapie trouve très bien sa place dans ce domaine et réduirait ainsi l'émergence de la résistance bactérienne.

Les tests biologiques effectués ont montré que l'effet antibactérien de l'HE d'*Eucalyptus globulus*, sur différentes souches bactériennes est très important, et les résultats de l'activité antibactérienne sont traduits par des zones d'inhibitions qui varient de 12 à 22 mm pour les souches *E. coli* 42,5 mm, pour la souche *Staphylococcus aureus* et 11,5 mm pour la souche *Klebsiella pneumoniae*. Ces résultats ont montrés un potentiel thérapeutique important d'*Eucalyptus globulus*.

La comparaison des valeurs des CMI et CMB révélé que notre huile possède un effet bactériostatique vis-à-vis certaines souches d'une part, elle exerce une action bactéricide contre d'autres souches d'une autre part. .

L'association des huiles essentielles avec aux antibiotiques a montré un effet synergique important et une sensibilité très élevée de quelques souches. Ces résultats nous permettent de conclure qu'on peut adopter cette stratégie qui permettrait aux antibiotiques d'être réappliqués sur les bactéries résistantes et de diminuer leur taux d'émergence, en réduisant la dose efficace requise dans les traitements. Cependant, il reste encore à mener d'autres expérimentations pour bien comprendre certains paramètres, notamment la stabilité des combinaisons, leurs modes d'action, la sélectivité, la dose optimale et leurs effets indésirables ou secondaires en tant que traitement.

Ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle active biologiquement d'une plante locale qui a des propriétés médicinales et aromatiques, l'importance de l'activité inhibitrice de l'huile essentielle étudiée sur la croissance bactérienne laisse entrevoir des perspectives d'application dans plusieurs domaines industriels: pharmaceutique, cosmétique, agro-alimentaire, etc.

Nous recommandons également une étude de la conception d'une formule médicamenteuse qui combine entre les antibiotiques et les huile essentielle présentant des effets synergiques en association et ce dans le but de lutter contre les bactéries manifestant une résistance aux agents antibactériens.

*Références  
Bibliographiques*

*Références bibliographiques*

- ✚ Abdesselam Z., (2006). Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. *Nutra News*, Pp. 6-16.
- ✚ Adwan G., Mhanna M., (2009). Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2(3), Pp. 46-51.
- ✚ Afnor., (2000). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*, thèse de doctorat BMC, université Oran, Algérie, Pp. 21.
- ✚ Ait-Ouazzou A., Lorán S., Bakkali M., Laglaoui A., Rota C., Herrera A., Conchello P., (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(14), 2643-2651.
- ✚ Albers E.M., Marianne Riksen-Walraven J., Sweep F.C., Weerth C.D., (2008). Le comportement maternel prédit la récupération du cortisol infantile à partir d'un facteur de stress quotidien léger. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, Pp. 49, 97-103.
- ✚ Amaral J.A., Ekins A., Richards S.R., Knowles R., (1998). Effect of Selected Monoterpenes on Methane Oxidation, Denitrification, and Aerobic Metabolism by Bacteria in Pure Culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 520-525.
- ✚ Andrade L.N., Amaral R.G., Fonseca C.S., Silva T.K., Andrade L.N., Franc M.E., Barbosa-Filho J.M., Sousa D.P., Moraes M.O., Pessoa C.O., Carvalho A.A. et Sara M.T., (2015). Les Huiles Essentielles Et Leurs Effets Synergiques: Lutte Contre Les Bactéries Multi résistantes, mémoire de master, Université Mouloud Mammeri Faculté De Médecine Tizi-Ouzou, Algérie, Pp. 42-43.
- ✚ Anna A., Gorbushina W.E., Krumbein., (2005), "Microorganisms and Soil Genesis: Role of Microorganisms in Wear Down of Rocks and Minerals." ed. Ajit Varma., François Buscot, Pp. 59-84.
- ✚ Arrigo M., Ginestra G., Mandalari G., Furneri P.M., Bisignano G., (2011). Synergism and post antibiotic effect of tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (teatree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Phytomedicine*, 17: 317–322.
- ✚ Audigier F., (1995). Histoire et géographie: des savoirs scolaires en question entre les définitions officielles et les constructions scolaires. *SPIRALE-Revue de Recherches en éducation*, Pp. 61-89.

- ✚ Bachir R.G., Benali M., (2012). Activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles d'*Eucalyptus globulus* contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Revue Asie-Pacifique de biomédecine tropicale, Pp. 2, 739-742.
- ✚ Bakkali F., Averbeck S., Idaomar M., (2008). Etudes de l'activité antibactérienne des composés phénoliques et d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, mémoire de master BMC, université Abbes Laghrour Khenchela, Algérie, Pp.12-13.
- ✚ Barreto H.M., Silva Filho E.C., Lima E. D. O., Coutinho H. D., Morais-Braga, M. F., Tavares C. C., Lopes J. A. D., (2014). Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and products*, 59, 290-294.
- ✚ Baser K.H.C., Buchbauer G., (2010). Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cytisus villosus*, mémoire de master BMC, université Abbes Laghrour Khenchela, Algérie, Pp. 11.
- ✚ Bassereau M., Chaintreau A., Duperrex S., Joulain D., Leijs H., Loesing G., OWEN N., Sherlock A., Schippa C., Thorel PJ., VEY M., (2007). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*, thèse de doctorat BMC, université Oran, Algérie, Pp. 21-22.
- ✚ Bauer K., Garbe D., Surburg H., (2001). Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. Wiley-VCH, Weinheim, Pp. 293.
- ✚ Belaiche P., (1979). "L'aromatogramme". Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. M. S.A. Editeur, Paris, Pp. 204.
- ✚ Béliveau R., Gingras D., (2005). Les aliments contre le cancer. Édition du Trécarré. Outremont, Pp.213.
- ✚ Belkhiri M., Lane A., (2020). Apporte de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* dans le phénomène de la résistance aux antibiotiques. Université de frère mantouri – Constantin, Pp. 20-28.
- ✚ Beloued A., (1998). Thèse Medicinal plants of Algeria. Alger: Office of University Publications, Pp.62.
- ✚ Belounis Y, SAOUDI B., (2020). Les huiles essentielles et leurs effets synergiques luttent contre les bactéries multi résistantes, Université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Pp. 16-21, 42-46.
- ✚ Benarab H., (2021). Effets des huiles essentielles de l'Armoise blanche (*Artemisia herba-alba*Asso.), l'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*Labill.) et le Harmel

- (*Peganumharmala*L.) sur la germination des graines des adventices des cultures (Doctoral dissertation). Université de setif , Pp. 7-8, 16, 44-52.
- ✚ Bendahou M., (2007). Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatique et médicinales de l'ouest algérien. Thèse de Doctorat, Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, Pp. 45.
  - ✚ Béné C., Oosterveer P., Lamotte L., Brouwer I.D., Haan, S., Prager S.D., Khoury C.K., (2019). Quand les systèmes alimentaires rencontrent la durabilité - Récits actuels et implications pour les actions. Développement mondial, Pp. 113-116.
  - ✚ Benjilali B., Zrira S., Bessiere J. M., Menut C., Elamrani A., (2004). Chemical composition of the essential oil of nine Eucalyptus species growing in Morocco. Flavour and fragrance journal, Pp.19. 80. 172-175.
  - ✚ Benkherara S., Bordjiba O., Djahra A. B., (2011). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale: *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie, Pp. 23, 72-80.
  - ✚ Berche P., Gaillard J.L., Simonet M., (1989). Bactériologie : bactéries des infections humaines, médecine-sciences Flammarion, Pp.18.
  - ✚ Bertella A., Benlahcen K., Abouamama S., Pinto D. C., Maamar K., Kihal M., Silva A. M., (2018). *Artemisia herba-alba* Asso. Essential oil antibacterial activity and acute toxicity. Industrial Crops and Products, 116, 137-143.
  - ✚ Bertella. A. (2019).Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Artemisia compestris* et *Rosmarinus tournefortii*. Thèse de Doctorat. Microbiologie appliquée. Université d'Oran, Pp.66-67.
  - ✚ Besombes C., (2008). Contribution a l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées, Thèse Doctorat, Université de La Rochelle, Pp. 41-45.
  - ✚ Betoni J. E. C., Mantovani R. P., Barbosa L. N., Di Stasi L. C., Fernandes Junior A., (2006). Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 101(4), 387-390.
  - ✚ Bianchini A., Tomi P., Costa J., Bernerdini A.F., (1997). Where knowledge construction, equity, and context intersect: Student learning of science in small groups. *Journal of Research in Science Teaching: The Official Journal of the National Association for Research in Science Teaching*, Pp. 34-39.

- ✚ Billerbeck V. G., (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques, *Phytothérapie*, 5(5), 249-253.
- ✚ Bouguerra A., (2012). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *foeniculum vulgare* Mill. Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine, Pp. 8.
- ✚ Bouguerra A., Himed L., Barkat M., (2014). Composes bioactive, Pp. 35-37-
- ✚ Boukhatem MN, Amine FM, Kameli A., Saidi F., Walid K., & Mohamed SB., (2014). Evaluation de la qualité de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* Labill d'origine Blida (Algérie). *Lettres internationales de chimie, physique et astronomie*, Pp .307-309.
- ✚ Boukhatem M. N., Ferhat M. A., Kameli A., Saidi, F., Kebir H. T., (2014). Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as potent anti-inflammatory and antifungal drugs. *Libyan Journal of Médecine*, Pp. 9.
- ✚ Boukhatem M.N., Ferhat A., Kameli A., (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Agrobiologie*, Pp 165. 9-10.
- ✚ Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries, Pp. 1-11.
- ✚ Bouzid D., Merzouki S., Boukhebt H., Zerroug M.M., (2021). Various Antimicrobial Agent of Ozonized Olive Oil, *The Journal of the International Ozone Association*, Pp. 18.
- ✚ Bremness L., (1998) Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments, thèse de magister en pharmacochimie, université mentouri de Constantine, Algérie, Pp. 36.
- ✚ Bruneton J., (1993). Etudes Chimique Et Biologique Des Huiles Essentielles De Quatre Plantes Aromatiques Médicinales De Cote D'ivoire, L'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY, Pp. 42.
- ✚ Bruneton J., (1999).Terpènes et stéroïdes. In *Pharmacognosie, Photochimie, Plantes médicinales*. Edition TEC et DC, Paris, 461 -769.
- ✚ Bruneton J., (2008). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*, thèse de doctorat BMC, université Oran, Algérie, Pp. 21-30.
- ✚ Buchanan K.L., Spencer K.A., Goldsmith A.R., Catchpole C.K., (2003). Song is an honest signal of past developmental stress in the European starling (*Sturnus vulgaris*). *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 270:1149–1156.

- ✚ Bupha-Intr T., Rattanasopa C., Phungphong S., Wattanapermpool J.(2015). Rôle important des œstrogènes dans le maintien des fonctions mitochondriales cardiaques. Le Journal de la biochimie des stéroïdes et de la biologie moléculaire, Pp.147, 1-9.
- ✚ Burits M., Bucar F., (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*, 14(5), 323-328.
- ✚ Burt S., (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review, *International journal of food microbiology*, vol.94, no 3, Pp. 223-253.
- ✚ Burt S., (2004). Etudes de l'activité antibactérienne des composés phénoliques et d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, mémoire de master BMC, université Abbes Laghrour Khenchela, Algérie, Pp. 4-13
- ✚ Carson C.F., Mee B.J., Riley TV ., (2002) . Mécanisme d'action de l'huile de *Melaleuca alternifolia* (arbre à thé) sur *Staphylococcus aureus* déterminé par des tests de durée de vie, de lyse, de fuite et de tolérance au sel et par microscopie électronique. *Agents antimicrobiens et chimiothérapie* 46(6): 1914-1920.
- ✚ Carson F., Hammer K., (2011). Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus tournefortii*, thèse de doctorat BMC, université Oran, Algérie, Pp. 18-19.
- ✚ Cermelli C., Fabio A., Fabio G., Quaglio P., (2008). Effect of eucalyptus essential oil on respiratory bacteria and viruses. *Current microbiology*, 56(1), 89-92.
- ✚ Chabenat H., (2017). Potentialité in vitro de 10 huiles essentielles, seules ou en association, dans le traitement des infections bactériennes cutanées (Doctoral dissertation), Pp. 32,33
- ✚ Chaintreau A., Joulain D., Marin C., Schmidt C.O., Vey M., (2003). Etudes de l'activité antibactérienne des composés phénoliques et d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, mémoire de master BMC, université Abbes Laghrour Khenchela, Algérie, Pp. 17
- ✚ Chalut C., Rémy M.H., Masson J.M., (1999). Les ponts disulfures ne sont pas impliqués dans la dimérisation de la protéine de liaison à la pénicilline chez *Escherichia coli*, *journal of bacteriology*, Pp. 18
- ✚ Chao L. K., Hua K. F., Hsu H. Y., Cheng S. S., Liu J. Y., Chang S. T., (2005). Study on the antiinflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(18), 7274–7278.
- ✚ Chao L.L., Martin A., (2000). Représentation d'objets artificiels manipulables dans le flux dorsal, *Neuroimage*, Pp. 12.

- ✚ Chebaibi A., Marouf Z., Rhazi-Filali F., Fahim M., Ed-Dra A., (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14(6), 355-362.
- ✚ Chikhoun A., (2007). Huiles essentielles de thym et d'origan étude de la composition chimique, de l'activité antioxydant et antimicrobienne, thèse de magister en agronomie, institut national agronomique El Harrach-Alger, p. 12-25.
- ✚ Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oil present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), Pp.58.
- ✚ Cordero C., Bicchi C., Joulain D., Rubiolo P., (2007). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*, thèse de doctorat BMC, université Oran, Algérie, Pp. 23.
- ✚ Coustes T., (2016). Loi d'avenir agricole, réglementation du médicament vétérinaire et lutte contre l'antibiorésistance, thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire D'alfort : faculté de médecine de Créteil, Pp. 31.
- ✚ Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J. E., Warmington J. R., Wyllie S.G., (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology* 88: 170-175.
- ✚ Dabaj C., (2021). Place de la tigécycline dans le traitement des infections à bactéries multi résistantes. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad. Marrakech, Pp. 8
- ✚ Damjanović-Vratnica B., Đakov T., Šuković. D., Damjanović J., (2011). Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. *Czech Journal of Food Sciences*, Pp. 28, 277-280, 284.
- ✚ Daroui-Mokaddem H., (2011/2012). Etude Phyto chimique et biologiques des espaces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) *Samyrium alusatrum* (Apiaceae) *Asteriscus maritimes*, et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asterarceae), Université de Badhji Mokhtar Annaba, Pp.11, 30-37, 67-72.
- ✚ Dauga C., Doré J., Sghir A., (2005), la diversité insoupçonnée du monde microbien, Université d'Évry, rue Gaston Crémieux, Pp. 290, 296.
- ✚ Dauvergne A., (2020). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora*: botanique, aromathérapie et enquête auprès des pharmaciens d'officine, Pp. 31-34, 68-73.
- ✚ Dedet J.P., (2007). La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes, livre, paris, Pp. 31.

- ✚ Dense, É., & Hidri, N. (2009). Synergie et antagonisme en antibiothérapie. *Antibiotiques*, 11(2), 106-115.
- ✚ Deng K. A. K., Lamine S., Pavlides A., Petropoulos G. P., Bao Y., Srivastava P. K., Guan Y., (2019). Large scale operational soil moisture mapping from passive MW radiometry: SMOS product evaluation in Europe & USA. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, Pp. 80, 206-217.
- ✚ Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat. Université d'Aix-Marseille, Pp.14, 111.
- ✚ Desjobert J. M., Bianchini A., Tomi P., Costa J., Bernardini A. F., (1997). Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse. Application a la valorisation des plantes de la flore corse. *Analisis*, Pp. 6-25.
- ✚ Desramaux M., (2018). Huiles essentielles en dermocosmétologie. Sciences pharmaceutiques. Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur de l'université de Bordeaux, Pp. 29-31.
- ✚ Djelloul R., Mokrani K., Hacini N., (2017). Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus et de Rosmarinus officinalis sur trois souches bactériennes. *Int. J. Appl*, Pp. 51,52.
- ✚ Djelloul R., Mokrani K., Hacini N., (2017). Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus et de Rosmarinus officinalis sur trois souches bactériennes. *Int. J. Appl. Environ. Sei*, Pp. 12, 47-56.
- ✚ Djenane D., Aïder M., Yangüela J., Idir L., Gómez D., Roncalés P., (2012). Antioxidant and antibacterial effects of Lavandula and Menthe essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. *Meat Science*, Pp. 92.
- ✚ Durrafourd C., Lapraz J.C., Reynier J., (2002). *Traité de phytothérapie clinique: endobiogénie et médecine*, Masson, Paris, France, Pp. 45.
- ✚ Duval J., Soussy C. J. (1973). Activité antibactérienne et pharmacocinétique de l'amoxicilline, Comparaison avec l'ampicilline, *Médecine et Maladies Infectieuses*, 3(12), 525-531.
- ✚ El amri J., Elbadaoui K., Zair T., bouharb H., chakir S., Alaoui T.L., (2014). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences.*, 82:7481– 7492.

- ✚ El Atki Y., Aouam I., El Kamari F., Taroq A., Nayme K., Timinouni M., Lyoussi B., Abdellaoui A., (2019). Antibacterial activity of cinnamon essential oils and their synergistic potential with antibiotics. *J Adv Pharm Technol Res.*10:63-67.
- ✚ El Ouafi F., (1997). Thésée Contribution à l'étude des plantes médicinales du Maroc (Doctoral dissertation, Thèse pour l'obtention du doctorat vétérinaire d'IAV Hassan-II, Rabat). Pp.33-36, 83.
- ✚ Erau P., (2019). L'eucalyptus: botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine, Pp. 27\_39,77\_79
- ✚ Eveillard M., Soltner C., Kempf M., Saint-André J. P., Lemarié C., Randrianarivelo C., Joly-Guillou M. L., (2010). The virulence variability of different *Acinetobacter baumannii* strains in experimental pneumonia. *Journal of Infection*, Pp. 60, 154-161.
- ✚ Farah A., Fechtal M., Chaouch A., (2002). Effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivés au Maroc. *BASE.*, Pp.164-166 .
- ✚ Farah A., Afifi A., Fechtal M., Chhen A., Satrani B., Talbi M., Chaouch A.,(2006). Fractional distillation effect on the chemical composition of Moroccan myrtle (*Myrtus communis* L) essential oils. *Flavour and fragrance Journal*, Pp. 21, 351-354.
- ✚ Fernandez X., (2017). Mise en évidence de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus hirtus willd*, mémoire de master BMC, université Abbes Laghrour Khenchela, Algérie, Pp. 9.
- ✚ Fisher K., Philip C., (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Science & Technology* 19 (2008) 156-164.
- ✚ Flamini G., Cioni P.L., Morelli I., Macchia M., et Ceccarini L., (2002). Main Agronomic Productive characteristics of two ecotypes of *Rosmarinus officinalis*, and chemical composition of their essential oils, Pp. 12-35.
- ✚ Foley G., Williams S.J., Yin L., Casey L.W., Outram M.A., Ericsson D.J., Kobe B., (2016). Structure and function of the TIR domain from the grape NLR protein RPV1, *frontiers in plant science*, Pp. 7. 18.
- ✚ Franchomme P., Jollois P., Pénoél D., (2001). Aromathérapie exactement. Roger Jollois, Limoges, France, Pp. 45.
- ✚ Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M. B., Taghizadeh M., Astaneh S. A., Rasooli I., (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food chemistry*, 102(3), 898-904.

- ✚ Goetz P., Ghedira K., (2012). Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles. In Phytothérapie anti-infectieuse. Springer, Paris, Pp. 60, 15-20, 196-198.
- ✚ Gouari S., (2021). Mécanismes d'action et de Résistance aux Antibiotiques. Mémoire de master. Université Mohamed Boudiaf, M'Sila, 20-21, 48-56.
- ✚ Guinoiseau E., (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action (Doctoral dissertation, Université de Corse. Pp.49-56.
- ✚ Guinoiseau E., Luciani, A., Rossi P. G., Quilichini Y., Ternengo S., Bradesi P., & Berti L. ,(2010). Article Cellular effects induced by *Inula graveolens* and *Santolina corsica* essential oils on *Staphylococcus aureus*. European journal of clinical microbiology & infectious diseases, Pp.874.
- ✚ Guinoiseau E., (2015). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur de l'université de Corse Pasquale-Paoli. France, Pp. 10.
- ✚ Haddad D., Hadji D., (2016). Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus sp*, mémoire de doctorat en pharmacie, Université Mouloud Mammeri Faculté De Médecine Tizi-Ouzou, Pp. 21-22.
- ✚ Halawani E., (2009). Antibacterial activity of thymoquinone and thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and their interaction with some antibiotics. Advances in Biological Research, 3(5-6), 148-152.
- ✚ Hellal Z., (2011). Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus tournefortii*, thèse de doctorat BMC, université Oran, Algérie, Pp. 19.
- ✚ Hmamouchi M., (1999). Les plantes médicinales et aromatiques marocaines: utilisation, biologie, écologie, chimie, pharmacologie, toxicologie, lexiques. Bibliographie du patrimoine culturel immatériel ,Faculté de médecine et de PharmacieUnité de recherche: substances naturelles rebat ,Maroc, Pp. 210-212, 266 .
- ✚ Jacob M., Pellecuer J., Tomei R., (1979). Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. Rivista Italiana E.P.P.O.S, Pp. 26-30.
- ✚ Jehl F., Cattoen C., (2019). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, Recommandations 2019, V2.0 Mai 2019, Pp.22, 23.
- ✚ Juergens U.R., Dethlefsen U., Steinkamp G., Gillissen A., Reppes R., Vetter H., (2003). Activité anti-inflammatoire du 1,8-cinéol (eucalyptol) dans l'asthme bronchique

- : un essai contrôlé par placebo en double aveugle. Médecine respiratoire, Pp. 97, 250-256.
- ✚ Kara K., Saidi S., (2016). Contribution à l'étude comparative du rendement et des composés chimiques de l'huile essentielle de *Eucalyptus globulus* L entre les feuilles âgée et les feuilles jeune de la forêt de Harouza ( Commun de Tizi-ouzou) ,Université de mouloude Mammeri de Tizi-ouzou, Pp. 4, 16-18.
  - ✚ Khiati M., (1998). Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments, thèse de magister en pharmacochimie, université mentouri de Constantine, Algérie, Pp. 7.
  - ✚ Khribch J., Nassik S., El houadfi M., ZRIRA S., Oukessou M., (2018). Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire, Pp. 6.
  - ✚ Kimbaris A.C., Siatis N.G., Daferera D.J., Tarantilis P.A., Pappas C.S., Polissiou M.G., (2006). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action, thèse de doctorat BMC, université de Corse, Pp. 49.
  - ✚ Koziol N., (2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora*: qualité, efficacité et toxicité (Doctoral dissertation, Université de Lorraine), Pp. 35-37.
  - ✚ Koziol L., Bever J.D., (2015). La réponse mycorhizienne est compensée par le taux de croissance des plantes et augmente avec le statut de succession des plantes, *Écologie*, Pp. 96
  - ✚ Krichen F., Karoud W., Sila A., Abdelmalek B.E., Ghorbel R., Ellouz-Chaabouni S., Bougatef A., (2015). Extraction, caractérisation et activité antimicrobienne des polysaccharides sulfatés de peaux de poissons, *Journal international des macromolécules biologiques*, Pp. 75 .
  - ✚ Kurkin V. A., (2003). Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity. *Chemistry of natural compounds*, 39(2), 123-153.
  - ✚ Kwiatkowski P., Pruss A., Grygorcewicz B., Wojciuk B., Dołęgowska B., Giedrys-Kalemba S., Sienkiewicz M., (2018). Preliminary study on the antibacterial activity of essential oils alone and in combination with gentamicin against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing and New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Microbial Drug Resistance*, 24(9), 1368-1375.

- ✚ Labed-Zouad I., Labed A., Laggoune S., Zahia S., Kabouche A., Kabouche Z., (2015). Compositions chimiques et activité antibactérienne de quatre huiles essentielles de *Ferula vesceritensis*Coss. *Dur Contre les pathogènes cliniques isolées et d'origine alimentaire. Registres des produits naturels*, Pp. 9, 518.
- ✚ Labrousse-Lherminé F., Pages M., Bros B., Hanaire H., Gourdy P., (2011). P113-Diabète et corticothérapie orale: enquête de pratique en médecine générale. *Diabetes & Metabolism*, Pp.61-62.
- ✚ Lafourcade M., Larrieu T., Mato S., Duffaud A., Sepers M., Matias I., Manzoni O.J., (2011). La carence nutritionnelle en oméga-3 abolit les fonctions neuronales médiées par les endocannabinoïdes. *Neurosciences de la nature*, Pp. 14, 345-350.
- ✚ Laghchimi A., Znini M., Majidi L., Renucci F., El Harrak A., Costa J., (2014). Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme. *J. Mater. Environ. Sei*, Pp. 1770-1774.
- ✚ Lakhdar L., (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in vitro (Doctoral dissertation), Pp. 12, 42 .
- ✚ Laouar S., (2012/2013). Etude de l'activité antibactérienne de quelque huile essentielle et l'effet de leurs associations avec les antibiotiques, Université de Abderrahmane Mira, Pp.15.
- ✚ Leclerc H., Gaillard J.L., Simonet M., (1995). Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments, thèse de magister en pharmacochimie, université mentouri de Constantine, Algérie, Pp. 5. 8-10.
- ✚ Levy S.B, Marshall B., (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat. Med.* 10: 122-129.
- ✚ Lorrain D., Koninck J., Gagnon P., (2013). Utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Etude de cas en maison de retraite. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, Pp. 26.
- ✚ Lucchesi M. E., (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, Thèse de Doctorat, Université de la Réunion, Pp. 12-23.
- ✚ Lv, F., Liang, H., Yuan, Q., & Li, C. (2011). In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*, 44(9), 3057-3064.

- ✚ Maalem B., Berdjane D., Tairi L., Faci Y., Djemili S., (2019). Identification des propriétés thermiques et microstructurales de la calamine de laminage à chaud. *Acta Metallurgica Slovaca* Pp. 291-296.
- ✚ Maalem S., Rafa M., (2020). Recherche des effets synergique entre les huiles essentielles extrait à partir de deux plantes aromatiques locaux (*Eucalyptus globulus* L et *Pistacia lentiscu*) et certains antibiotiques. Université Akli MOHAND OULHDJ-Bouira, Pp. 3-5,7-11.
- ✚ Mahboubi M., Haghi G., (2008). Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L, *Journal d'ethnopharmacologie*, Pp. 119
- ✚ Marianne P.,(2008). étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne composition chimique , activités pharmacologiques et hémi-synthèse . Université de québec à Chicoutimi,Pp.6-8.
- ✚ Mehdi H., Fábos V., Tuba R., Bodor A., Míka L.T., Horváth I.T., (2008). Intégration de procédés catalytiques homogènes et hétérogènes pour une conversion multi-étapes de la biomasse : Du saccharose à l'acide lévulinique, la  $\gamma$ -valérolactone, le 1,4-pentane diol, le 2-méthyl-tétrahydrofurane, et les alcanes. *Sujets en catalyse*, Pp. 48, 49-54
- ✚ Mekonnen A., Yitayew B., Tesema A., Taddese S., (2016). In vitro antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *International journal of microbiology*.
- ✚ Merghache S., Hamza M., Tabti B., (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, Pp. 5, 72 -73.
- ✚ Meriem A., Imane B., (2019). Isolement et caractérisation des bactéries nodulantes le pois chiche en vue de la production d'inoculum, Pp.21.
- ✚ Messadié G., (1995). *Les compacts : les grandes découvertes de la science*, Casbah Editions Algérie, Pp. 18.
- ✚ Milner J.Â., (2001). A historical perspective on garlic and cancer. Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as a supplement. *J. Nutr.* 131, 1027- 1031.
- ✚ Milner J.Â., (2006). Preclinical perspectives on garlic and cancer. Significance of garlic and its constituents in cancer and cardiovascular disease. *J. Nutr.* 136, 827-831.
- ✚ Mitscher L.A., Ma Z., (2003). Relations structure-activité des quinolones. Dans les antibiotiques Fluoroquinolones. *Birkhäuser, Bâle*, Pp. 11-48.

- ✚ Mokaddem-Daroui H., Touafek O., Kabouche A., Kabouche Z., Calliste C.A., Duroux J.L., (2012). Composants et activité antioxydante des extraits polaires de *Chrysanthemum trifurcatum*. *Chimie des composés naturels*, Pp. 48 ,498-499.
- ✚ Morel A. S., (2017). Fosfomycine et lincomycine sur *Staphylococcus aureus* et non aureus. Proposition de diamètres critiques. Concentrations minimales bactéricides de la lincomycine. Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur en pharmacie. Université d'Aix-Marseille, Pp. 22.
- ✚ Moroh J. L. A., (2013). Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides* (Doctoral dissertation, Université de Bretagne occidentale-Brest), Pp. 20-24, 64-67, 84.
- ✚ Mouas Y., Benrebihe F. Z., Chaouia C.,(2017). ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTERIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE L'EXTRAIT MÉTHANOLIQUE DU ROMARIN *ROSMARINUS OFFICINALIS L.* *Revue Agrobiologia*, Pp.365-367.
- ✚ Mouhi L., (2017). Etude des activités biologiques de l'association des huiles essentielles de plantes de la flore Algérienne. Elaboration d'une forme pharmaceutique (Doctoral dissertation, Faculté de Génie Mécanique et de Génie des Procédés, Pp. 4-6, 23-26, 33.
- ✚ Mouhi L., Moghrani H., Nasrallah N., Amrane A. et Maachi R., (2017). Activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'un *Thymus fontanesii* Boiss endémique. Reut. avec le chémotype carvacrol, et sa capacité de cicatrisation sur les lésions gastriques. *Journal de biochimie alimentaire*, Pp.41.
- ✚ Moussaoui F., & Alaoui T., (2016). Evaluation de l'activité antibactérienne et de l'effet synergique entre l'antibiotique et les huiles essentielles de certaines plantes médicinales, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomed Mammeri Faculté De Médecine Tizi-Ouzou*, ciné, Pp. 6-32.
- ✚ Mulyaningsih S., Sporer F., Zimmermann S., Reichling J., Wink M., (2010). Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1, 8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*, 17(13), 1061-1066.
- ✚ Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A., (2009). *Medical Microbiology* Elsevier edn, Philadelphia, Pp. 960.
- ✚ Muylaert A., Mainil J.G., (2015). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leurs «Contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.*, 156, 109- 123.

- ✚ Nathalie K., (2015). Huil essentielle d'eucalyptus globulus, d'*Eucalyptus radia* et de *corymbia citriodora* : qualité, effecacité et toxicité, Université de Lorraine,
- ✚ Olle M., Bender I., (2010). The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research* 8 (3), Pp. 687-696.
- ✚ Opatowski M., (2020). Résistance bactérienne aux antibiotiques, apport du système national des données de santé (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay), Pp. 16-21.
- ✚ Ouis N., (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil. Diss. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger, Pp.5-7,19.
- ✚ Oussou K., Yolou S., Tue B., Kanko Bi. C., Boti J., Ahibo C., Casanova J., (2010). Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimum Gratissimum* (*Lamiaceae*). Euro Journals Publishing, Inc, Pp. 51.
- ✚ Pauline E., (2019).L'Eucalyptus : botanique, composition chimique , utilisation thérapeutique et conseil a l'Officine. thèse de DOCTEUR EN PHARMACIE. LA FACULTEDE PHARMACIE DE MARSEILLE, Pp. 40-77.
- ✚ Piochon M. (2008). Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiaues et hémi-synthèse. Mémoire, Université du Quebec à Chicoutimi, Canada. Pp. 16.
- ✚ Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C., Roura S.I., (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel- Wissenschaft und-Technologie* Pp. 36-67.
- ✚ Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., (1995). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action, thèse de doctorat BMC, université de Corse, Pp. 5.
- ✚ Pyun M.S., Shin S., (2006). Antifungal effects of the volatile oils from *Asium* plants against *Trichophyton* species and synergism of the oils wih ketoconazole. *Phytomedicine* 13, 394- 400.
- ✚ Randrianarivelo R., (2010). *Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar Cinnamosma fragrans, alternative aux antibiotiques en crevetticulture* .Doctoral dissertation, Université d'Antananarivo, Pp. 4, 20, 25.
- ✚ Razakarivony A.A., Andriamihaja B., Razanamahefa B., (2009). Etude chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Callistemon rigidium*, Actes du symposium biomad, Université d'Antananarivo, Pp. 28.

- ✚ Razzaghi-Abyaneh M., Shams-Ghahfarokhi M., Rezaee M.B., Jaimand K., Alinezhad S., Saberi R., Yoshinari T., (2009). Chemical composition and anti aflatoxigenic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils, *Food Control*, Pp. 20.
- ✚ Rice L.D., Sahm D., Bonomo R.A., (2003). Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. In: Murray, P.R. (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 1, eighth ed. ASM Press, Washington, Pp.10.
- ✚ Rohello F. L., (2020). L'antibiogramme par diffusion: de sa découverte à son automatiser-Mise en place d'une méthode automatisée au CHU de Rouen. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en pharmacie. Université de Rouen Normandie, Pp. 27.
- ✚ Rosato A., Vitali C., De Laurentis N., Armenise D., Milillo M.A, (2007). Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedicine* 14: 727-732.
- ✚ Rubens D.M., Constantine O.O., Moevi A.A., Nathalie G.K., Daouda T., David N.J., Joseph D.A., (2015). Activité anti *Staphylococcus aureus* de l'extrait aqueux et de la fraction hexanique de *Thonningia sanguinea* (Cote ivoire). *Int J Pharmacogn Phytochem Res*, Pp. 6, 7, 301.
- ✚ Russo S., Taber - Grass M.A., Fontana H., Leonel li E., (2017). Insecticidal activity of essential oil from *Eucalybtus globulus* against *Aphis nerii* (Boyer) *Gunaikothrips ficorum* (Marchal), Pp.64-65.
- ✚ Sabiha T. O. U. M. I., Amina S. A. H. N. O. U. N., (2019). Extraction et Activité biologique des huiles essentielles de la menthe à feuilles rondes. Pp. 7-9.
- ✚ Sadikalay S., (2018). Influence des rejets humains et animaux sur la diffusion de l'antibiorésistance à l'homme, aux animaux et à l'environnement en Guadeloupe (Doctoral dissertation, Antilles), Pp.18.
- ✚ Sahtouri C.h.,Yahia C.h., Gasmi H.,(2019). Thèse Les antibiotiques et l'immunité . Université de 8 mai 1945 Guelma, Pp. 35-38.
- ✚ Seok M. T., Liqun X., Cesar A., Arias M.V., Villegas, K. L., John Q., Alexander S. M., (2007). Acquisition of a natural resistance gene renders a clinical strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to the synthetic antibiotic linezolid. Blackwell Publishing Ltd, *Molecular Microbiology*, 64, 1506-1514.
- ✚ Seydina D. D., (2017). Création d'une collection Internationale de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques (Doctoral dissertation, Université d'Antananarivo), Pp.2.

- ✚ Shaaban H. A. E., El-Ghorab A. H., Shibamotoand T., (2012). Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba*, *Artemisia campestris* et *Rosmarinus tournefortii*, thèse de doctorat BMC, université Oran, Algérie, Pp. 28.
- ✚ Shellie R., Marriott P., Chaintreau A., (2004). Quantization of suspected allergens in ragrances: evaluation of comprehensive two-dimensional GC for quality control, *Flavour and Fragrance Journal* - Wiley Online Library, Pp. 8,91.
- ✚ Singh S.B et Barrett J.F .,(2006). Découverte empirique de médicaments antibactériens - fondement des produits naturels. *Pharmacologie biochimique*, Pp.109.
- ✚ Singh S.B., Barrett J.F., (2006). Découverte empirique de médicaments antibactériens - fondement des produits naturels. *Pharmacologie biochimique*, Pp.71, 1006-1015.
- ✚ TAHRI N., El BASTI A., ZIDANE L., ROCHDI A., DOUIRA A., (2012). Etude ethnobotanique des plantes medicinales dans la province de Settat (Maroc). *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, Pp. 12, 192-208 .
- ✚ Tesche S., Metternich F., Sonnemann U., Engelke J.C., Dethlefsen U., (2008). Intérêt des plantes médicinales dans le traitement de la rhinosinusite aiguë non purulente. *Archives européennes d'oto-rhino-laryngologie*, Pp. 265, 1355-1359.
- ✚ Thabaut A. Durosoir J.L., (1979). L'Antibiogramme : Méthodes classiques et Méthodes automatisées. *Médecine ET Maladies Infectieuses*, Volume 9, Issue 9, 490-495.
- ✚ Tolba H., (2017). Extraction des huiles essentielles du plant de la flore algérien, étude de l'effet thérapeutique en vue d'une application pharmaceutiques. *Université des sciences et de la technologie-Houari Boumediene*,Pp. 16-18.
- ✚ Toroglu S., (2011). In-vitro antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. *Journal of Environmental Biology*. 32 (1), 23-29.
- ✚ Toure D., (2015). Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire (Doctoral dissertation, Université Felix Houphoeut Boigny, Côte d'Ivoire), Pp. 5-7, 16, 15, 31-34,41-43.
- ✚ Veysiere A., (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries plus communent rencontres dans les infections communautaires, Pp.15-21, 39-41.
- ✚ Vijayabaskar P., Vaseela N., Thirumaran G., (2012). Propriétés antibactériennes et antioxydantes potentielles d'un polysaccharide sulfaté de l'algue marine brune *Sargassum swartzii*, *Journal chinois des médecines naturelles*, Pp.10-21.

- ✚ Wagner H., Ulrich-Merzenich G., (2009). Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine*, 16(2-3), 97-110.
- ✚ Wang I.N., Smith D.L., Young R., (2000). Holins: the proteins clocks of bacteriophage infections, *Annu. Rev. Microbiol*, Pp. 54.
- ✚ Wichtl M., Anton R., (2003). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale science thérapeutique, Ed Tec. Doc, Pp. 29.
- ✚ Wijsekara R.O.B., Ratnatunga C.M., Durbeck K., (1997). Etudes de l'activité antibactérienne des composés phénoliques et d'huile essentielle d'*Artemesia herba alba*, mémoire de master BMC, université Abbes Laghrour Khenchela, Algérie, Pp. 16.
- ✚ Yalad., Merad A.S., Mohamedi D., Ouar-Korichi M.N., (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb* n°91. Institut Pasteur d'Algérie, Pp. 1-8.
- ✚ Yanishlieva N. V., Marinova E. M., Gordon M. H., Raneva V. G., (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thym Durosoir ol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, 64(1), 59-66.
- ✚ Yelin I., Kishony R., (2018). Antibiotic resistance. *Cell*, 172(5), 1136-1136.
- ✚ Zaibet W., (2018). Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD) (Doctorat dissertation), Pp.24.
- ✚ Zeghilet N., & El Hadeif EOS., (2009). Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans la viande blanche par chromatographie liquide haute performance (HPLC), Pp.17.
- ✚ Zidouh A., (2019). Le profil bactériologique des bactériémies et l'état de résistance aux antibiotiques. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad. Marrakech, Pp. 64-65.

# *Annexes*

**Annexe 1 : Composition des milieux de culture.**

<b>Gélose nutritive "Nutrient agar"</b>	
Gélatine Peptone	5,0 g
Extrait de bœuf	3,0 g
Gélose bactériologique	15,0 g
L'eau distillée	1L

<b>Bouillon Mueller Hinton " Mueller Hinton Broth "</b>	
Peptone de caséine acide (H)	17,5 g
Infusion de bœuf	20 g
Fécule de maïs	15 g
L'eau distillée	1L

<b>Gélule Mueller Hinton "Mueller Hinton Agar "</b>	
Peptone de caséine acide (H)	17,5 g
Bœuf Infusion	2:0 g
Amidon	1,5 g
Gélose bactériologique	17,0 g
L'eau distillée	1L

<b>Bouillon nutritif " Nutrient broth"</b>	
Gélatine Peptone	17,5 g
Gélatine Peptone	2:0 g
Extrait de bœuf	1,5 g
L'eau distillée	17,0 g

### **Annexe 2: La Préparation des milieux de culture**

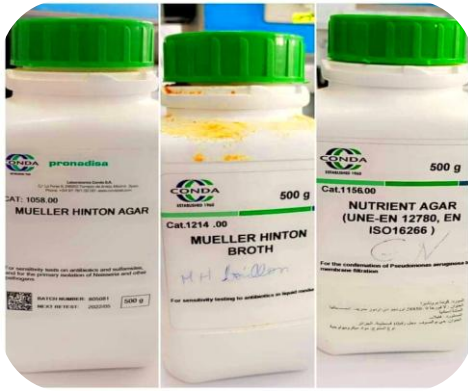
La culture des bactéries nécessite l'utilisation des milieux suivants : la gélose Mueller Hinton (MH), les bouillons nutritifs (BN) et la gélose nutritifs (GN)

- **Gélose Mueller-Hinton** : C'est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiennes (**Ponce et al., 2003**). Nous avons mélangé 57g de la poudre de milieu déshydraté avec 1,5L de l'eau distillée dans un bécher et nous avons bien agité avec un chauffage pour dissoudre l'agar. Puis nous avons versé la solution obtenue dans des flacons, que nous avons stérilisés à 120°C pendant 20 min par autoclavage.

- **Gélose Nutritive et bouillon nutritif** : Ce sont des milieux largement utilisés pour la culture des micro-organismes peu exigeants (**Ponce et al., 2003**).

- **Gélose nutritive** : Nous avons mélangé 28g de la poudre de gélose déshydraté avec 1L de l'eau distillée dans un bécher et nous avons bien agité avec un chauffage pour dissoudre l'agar. Verser la solution obtenue dans des flacons, Puis nous avons versé la solution obtenue dans des flacons, que nous avons stérilisés à 120°C pendant 20 min par autoclavage.

- **Bouillon nutritif** : Nous avons mélangé 6,5g du milieu bouillon nutritif en poudre avec 500 ml de l'eau distillée dans un bécher et nous avons bien agité avec un chauffage. Puis nous avons versé La solution obtenue dans des tubes, que nous avons stérilisés à 120°C pendant 20 min par autoclavage.



Milieu de culture déshydraté



pesée de la poudre



Autoclavage



Agitation



Préparation des boîtes de pétri dans la zone stériles.

Figure 1: la préparation des milieux de culture.