

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955 سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955-SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Diplôme de Master Mémoire Présenté en Vue d'Obtention du

Filière : sciences biologiques

Spécialité: microbiologie appliquée

Intitulé:

**Activité antibactérienne de quelques huiles essentielles
(*Rosmarinus officinalis*, *Mentha longifolia*, *mentha
pulegium*)**

Présenté Par:

Djouama assala Larab Rania Necib Djihane Sedour khansa

Membre de Jury:

Dr. BENDJAZIA Radia	(MCA)	Présidente	Univ. du 20 Août 1955-Skikda
Dr. LABID Asma	(MCA)	Promotrice	Univ. du 20 Août 1955-Skikda
Dr. ZADRI Fathia	(MCB)	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955-Skikda

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

*Tout d'abord; nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir accordé la force d'accomplir ce modeste travail. exprimons nos sincères remerciements à notre encadrant **Dr. Labid Asma** qui a voulu diriger ce travail ; aussi pour sa très bonne accueil, sa large disponibilité, ses conseils et ses encouragements grâce aussi à sa bonne direction de ce travail dans les moments les plus difficiles.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à **Mme Machia Leila** qui par ses orientations et ses conseils nous a permis de mener à bien notre travail.*

*Nous tenons un grand merci à notre responsable de stage **Dr.Belkamel.N.** Net tous les personnels du laboratoire d'analyses médicales EPH à Skikda pour leur accueil chaleureux, pour avoir permis la réalisation de ce travail dans une ambiance inoubliable.*

*Nous remercions très sincèrement et tout particulièrement les membres de jury **Dr.Bendjazia.R** et **Dr. Zadri.F** qui ont eu l'amabilité d'accepter de juger ce travail.*

Enfin, nous sommes agréables d'adresser nos chaleureux remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation au sein de l'université de 20 Août 1955 SKIKDA et à tous ceux que nous n'avons pas cités et qui nous ont pourtant aidés de près ou de loin à la réalisation de cette présente étude

Assala khansa Rania Djihane

Dédicace

Avant toute, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

À mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte Que jamais je ne vous déçoive

À mes très chers sœurs soumaya, Amel, zeyneb

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès, que Dieu le tout puissant vous protège.

À mon petit et unique frère Brahim

Les mots ne suffisent pas pour exprimer l'amour et l'attachement que je porte pour toi mon ange et mon fidele compagnon je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

Tout particulièrement à mon t très cher Mari Farid

Merci pour ton soutien, ta générosité, ta gentillesse sans égal. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements, ce travail n'aurait jamais vu le jour. Que dieu le tout puissant réunisse nos chemins pour un long commun serein.

À ma bellecopine Houda

A toi ma sœur je dédie ce travail. Merci pour ta chaleur, ta gentillesse, ta générosité, et tes encouragements qui m'ont toujours touché. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je t'aime ma sœur.

*À mes amis **Rania, Assala, et Djihane** j'ai partagée avec elles les Joies et les difficultés au suivi de notre travail*

*À toute la famille: **Sedour***

Khansa

Dédicace

*Tout d'abord, je remercie mon **Dieu** le tout puissant qui m'a donné, la volonté, le courage, la patience, l'endurance et qui a guidé mes pas vers le droit chemin pour réaliser ce travail. Je dédie ce mémoire à*

Ceux qui m'ont tout donné sans rien attendre en retour Ceux qui m'ont encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études

***A Mes parents** tous les mots sont insuffisants pour exprimer ma gratitude et ma reconnaissance Merci pour leurs Efforts et leurs sacrifices durant toute ma vie leurs encouragement et soutien pour persévérer Jusqu'à l'aboutissement de ce travail.*

*A Mes chères sœur **Manel** et frères **Kossai***

*et **khair Eddine** Merci pour le soutien Moral et leurs amours.*

***A Mon chère Mari Riad** Merci pour l'encouragement, ta gentillesse sans égal ,et ton soutien inestimable financier ,Matériel ,Moral, et tes conseils aussi nobles pour ma réussite a demander a dieu de rassembler notre chemin tout au Lang de notre vie.*

Tous ceux qui m'aiment Merci

Rania

Dédicace

Je dédie ce travail à

Ma mère, Le plus beau cadeau que le Dieu m'a offert, qu'Allah la garde pour nous. elle a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

Mon père , école de mon enfance et berceau de ma culture. Qui est toujours un exemple pour moi, et qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les bonnes. que dieu les gardes et les protège.

*ma encadrant **Dr. Labid Asma**, Je tiens à vous remercier du fond du cœur pour votre patience, votre compréhension et votre soutien constant. Vous avez laissé une empreinte indélébile sur mon éducation et mon développement personnel, pour laquelle je vous serai éternellement reconnaissante.*

*A ma belle enseignante **Ou. Kamilia** C'est avec une profonde reconnaissance et un grand respect que je me permets de vous dédier ces quelques mots, témoignant de ma gratitude envers vous. Vous avez été bien plus qu'un enseignant; vous avez été un véritable pilier dans ma vie, m'offrant soutien et guidance à chaque étape de mon parcours.*

A mes chers grands parents, A mes sœurs et mes frères qui m'ont aidés beaucoup durant toutes L'années universitaires.

A mon époux, j'exprime toute ma gratitude

A tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu de loin et de près durant cette année de formation. .

À tous ceux qui aiment la science

Assala

Dédicace

Ce modeste travail est dédié spécialement ;

***A ma chère maman**, ma raison de vivre, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices.*

***A mon chère papa**, pour tous le soutien et l'amour qui vous me portez depuis mon enfance et pour son dévouement.*

A vous mes chères parents, je dis merci d'avoir fait pour moi celui que je suis aujourd'hui. Aucun dédicace pourra exprimer mes respects, mes considérations et ma grande admiration pour vous. Puisse ce travail vous témoigne mon affection et mon profond amour.

***A mes adorables frères** qui ont été toujours là à mes cotés, qui m'ont aidé en toute étape de ma vie*

***A ma chère sœur** et mon support **Bsmela** qui fait une partie de mon bonheur. A tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu de loin et de près durant cette année.*

*A mes camarades de travail **Assala, Rania et Khansa**.*

Djihane

Table des matières

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste Des abréviations

Résumé

Abstract

الملخص

Introduction	1
Chapitre I: Revue bibliographique:	
I Généralités sur les bactéries testées	2
1 <i>Streptococcus sp</i>	2
1.1 Classification	2
1.2 Habitat	2
1.3 Pouvoir pathogène	2
1.4 Caractères cultureux	3
1.5 Résistance aux antibiotiques	3
2 <i>Staphylococcus aureus</i>	4
2.1 Classification	4
2.2 Habitat	4
2.3 Pouvoir pathogène	4
2.4 Caractères cultureux	5
2.5 Résistance aux antibiotiques	6
3 <i>Klebsiella ornithinolytica</i>	6
3.1 classification	6
3.2 Habitat	7
3.3 Pouvoir pathogène	7
3.4 Caractères cultureux	7
3.5 Résistance aux antibiotiques	7
4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
4.1 Classification	8
4.2 Habitat	8

Table des matières

4.3 Pouvoir pathogène	8
4.4 Caractères cultureux	8
4.5 Résistance aux antibiotiques.....	9
5 <i>Escherichia coli</i>	9
5.1 Classification.....	10
5.2 Habitat	10
5.3 Pouvoir pathogène.....	10
5.4 Caractères cultureux.....	10
5.5 Résistance aux antibiotiques	11
6 <i>Enterobacter Cloacae</i>	11
6.1 Classification	11
6.2 Habitat	12
6.3 Pouvoir pathogène.....	12
6.4 caractères cultureux.....	12

Activités antimicrobiennes

1 Généralités sur menthe pouliot.....	13
1.1 Définition	13
1.2 Étymologie	13
1.3 Etude botanique de <i>Mentha pulegium L.</i>	13
1.3.1 Description botanique.....	13
1.3.2 Répartition géographique.....	13
1.3.3 Classification.....	14
1.3.4 composition chimique	15
2 Généralités sur <i>la mentha longifolia</i>	16
2.1 Définition	16
2.2 Etymologie	16
2.3 Etude botanique de <i>mentha longifolia</i>	16
2.3.1 Description de la plante	16
2.3.2 Répartition Géographique de <i>Mentha longifolia</i>	17
2.3.3 Classification.....	17
2.3.4 Composition chimique	18
3 Généralités sur le <i>Rosmarinus Officinalis</i>	19
3.1 Définition	19
3.2 Étymologie	19
3.3 Étude botanique du romarin.....	20

Table des matières

3.3.1 Description de la plante	20
3.3.2 Répartition géographique.....	20
3.3.3 Classification.....	21
3.3.4 Composition chimique	21
4 Généralités sur les huiles essentielles.....	22
4.1 Définition	22
4.2 Localisation de l'huile essentielle dans la plante.....	22
4.3 Composition chimique	22
4.4 Propriétés physiques.....	23
4.5 Toxicité.....	23
4.6 Effet antibactérien	24
Chapitre II Matériel et Méthodes	
1 Objectif du travail.....	25
2 Matériel	25
2.1 Matériel du laboratoire	25
2.2 Produits et les milieux utilisés.....	25
2.3 Matériel biologique	25
3 Ensemencement.....	26
4 Etude macroscopique.....	26
5 Etude microscopique.....	26
6 Identification biochimique	27
7 Antibiogramme	28
Partie 02	29
1. Matériel Végétal.....	29
1.1 Choix des plantes utilisées.....	29
1.2 Origine et choix des souches bactériennes	29
2. Méthode d'évolution de l'activité antibactérienne	29
2.1 Repiquage des souches microbiennes	29
2.2 Méthode de dilution.....	29
2.3 Préparation de l'inoculum.....	30
2.4 Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits).....	30
Chapitre III : RÉSULTATS ET DISCUSSION	
Partie01	32
1 Identification des souches.....	32
2 Caractérisation biochimique	33

Table des matières

3 Résultats des antibiogrammes	37
Partie 02	38
1. Caractères Organoleptiques les huiles essentielles utiliser	38
2. Résultats du test du pouvoir l'activité antibactérienne	39
2.1 Résultats du Repiquage des souches bactériennes	39
2.2 Résultats de l'aromatogramme.....	39
2.3 Comparaison des Trois Huiles Essentielles entre elles	39
CONCLUSION	45
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des figures

Figure 01 : Hémoculture positive à streptocoques [2]	2
Figure 02 : Principaux facteurs de virulence de <i>Streptococcus pyogènes</i> et leur(s) Implication(s) dans la pathogénèse des infections à SGA. [5].....	2
Figure 3 : Aspect du Pneumocoque sur une gélose au sang incubé en atmosphère enrichie en CO ₂ . [8].....	3
Figure 04 : Photo microscopique d' <i>Escherichia coli</i> [37]	10
Figure.05 : <i>Escherichia coli</i> sur milieu Hektoen [43]	11
Figure 06 : <i>Rosmarinus Officinalis L</i> de la région de Texanna de Jijel [67]	19
Figure 07 : Aspect morphologique de romarin [72]	20
Figure 08 : Structure de quelques composés principaux des huiles essentielles. [81].....	23
Figure 09 : technique de l'ensemencement sur différents milieux de cultures (prise personnelle)	26
Figure 10 : Préparation des frottis de l'état frais (prise personnelle)	26
Figure 11 : les étapes de coloration de Gram (prise personnelle).....	27
Figure12 : Test catalase (prise personnelle)	27
Figure13 : technique de galerie API20E (prise personnelle)	28
Figure 14 : les étapes de la méthode d'antibiogramme (prise personnelle).....	28
Figure16 : préparation de la suspension (prise personnelle).....	30
Figure17 : Technique d'ensemencement va-et-vient (prise personnelle)	30
Figure 18 : méthode de puits (prise personnelle)	31
Figure 19 : Application les dilutions sur les puits (prise personnelle)	31
Figure20 :Enrichissement des souches pathogènes sur plusieurs milieux de cultures (pris personnelle)	32
Figure 21 : Observation microscopique des souches pathogènes état frais et après coloration de Gram (Prise personnelle)	33
Figure22 : Résultats de test de catalase (prise personnelle).....	34
Figure 23 : Résultat du test coagulase (prise personnelle).....	34
Figure24 : Resultats obtenus de l'identification biochimique par galerie biochimique API20E (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) (prise personnelle)	35
Figure25 : Resultats obtenus de l'identification biochimique par galerie biochimique API20E (<i>Escherichia coli</i>)(prise personnelle)	35
Figure 26 : Résultats obtenus de l'identification biochimique par galerie biochimique API20E (<i>Klebsiella ornithinolytica</i>)(prise personnelle).....	36
Figure27 : Résultats obtenus de l'identification biochimique par galerie biochimique API20E (<i>Enterobacter Cloacae</i>) (prise personnelle).....	36
Figure28 : Résultat des antibiogrammes (prise personnelle)	37
Figure29 :Les zones d'inhibition des huiles essentielles testées)1(<i>mentha pulegium</i> ,)2(<i>Rosmarinus officinalis</i> ,)3 (<i>Mentha longifolia</i> sur les souches bactériennes : (a) <i>P.aeruginosa</i> , (b) <i>E. coli</i> , (c) <i>K.ornithinolytica</i> ,(d) <i>S.aureus</i> ,(e) <i>Streptococcus sp.</i> ,(f) <i>E. cloacae</i>	39

Liste des figures

Figure 30 : histogramme présentant les zones d'inhibition pour les souches bactériennes testées avec l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	40
Figure31 : histogramme présentant les zones d'inhibition pour les souches bactériennes testées avec l'huile essentielle de <i>Mentha longifolia</i>	41
Figure 32 : histogramme présentant les zones d'inhibition pour les souches bactériennes testées avec l'huile essentielle de (<i>Mentha pulegium</i>)	43

Liste des Tableaux

Tableau 01: principaux caractères d'identification de l'espèce <i>Staphylococcus aureus</i> . [11]	5
Tableau 02 : Classification de romarin [74]	21
Tableau 03 : La description des échantillons et le type de prélèvement	25
Tableau 04 : les dilutions des huiles essentielles avec DMSO	30
Tableau05 : L'aspect des colonies des souches isolées.....	32
Tableau 06: L'aspect des cellules après une étude microscopique à l'état frais et après coloration de Gram	33
Tableau 07: caractéristique organoleptique des huiles essentielles.....	38
Tableau 08 : Résultats de l'aromatogramme (diamètres des zones d'inhibition en mm de chaque dilution, DMSO, huile pure) HE de <i>Rosmarinus officinalis</i>	40
Tableau09 : Résultats de l'aromatogramme (diamètres des zones d'inhibition en mm de chaque dilution, DMSO, huile pure) de <i>Mentha longifolia</i>	41
Tableau10 : Résultats de l'aromatogramme (diamètres des zones d'inhibition en mm de chaque dilution, DMSO, huile pure) de <i>mentha pulegium</i>	42

Liste d'abréviation

ASD :Atrial septal defect

AMPC : adénosine monophosphate cyclique

ADH : antidiuretic hormone

BLSE : Les bêtalactamases à spectre élargi

CIT : opus citatum

DMSO : diméthylsulfoxyde

ESBL : bêtalactamases à spectre élargi

ECC : L'Église du christianisme céleste

E. coli : Escherichia coli

GN : gélose Nutritives

GB : globules blanc

GR : globules rouges

GSC :Great Solutions Company.

HE : Huiles essentielles

K : kalebsiella Type Rating Instruction

LDC :least developed countries

LPS :Lipopolysaccharide

MI : Myocardial Infarction

MH : Molting Hormone

ME : myalgic encephalomyelitis

OMP : Presidential Leadership Program

PLP2A : Protéine de liaison à la pénicilline

P : Pseudomonas aeruginosa

PG : Prostaglandine

R : Résistance

SP : streptocoque pyogènes

S : streptococcus

SLO : Service Librement Organisé

Liste d'abréviation

SARM :Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline

TRI : Triglycéride

TEM : Transmission électron microscopie

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source essentielle de nouveaux médicaments. La phytothérapie, qui utilise les extraits de plantes pour traiter diverses maladies, est considérée comme une médecine alternative ou complémentaire à la pharmacie classique. La recherche de nouvelles molécules thérapeutiques est une priorité en santé publique, et les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques et médicinales offrent une piste prometteuse.

Dans cette étude, nous avons exploré l'effet antibactérien d'une huile essentielle extraite des feuilles de plantes médicinales. L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. L'activité antimicrobienne de l'huile a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose. Une variété de souches bactériennes, à Gram positif et à Gram négatif, a été testée, incluant *Klebsiella ornithimolytica*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, et *Streptococcus sp.*

Les résultats ont montré une variation de l'effet antibactérien de l'huile essentielle en fonction des souches bactériennes testées. Certaines souches se sont révélées moyennement sensibles à l'effet de l'huile, avec des diamètres d'inhibition variant entre 3 et 33 mm.

Les huiles essentielles possèdent une activité antibactérienne due à des molécules biologiquement actives, telles que les composés phénoliques et terpéniques. L'efficacité de l'huile essentielle varie selon la souche bactérienne et la concentration utilisée. Les bactéries à Gram positif sont généralement plus sensibles à l'action des huiles essentielles en raison de la structure de leur paroi cellulaire, qui diffère de celle des bactéries à Gram négatif.

Cette étude met en évidence le potentiel des huiles essentielles comme agents antibactériens naturels. Les résultats obtenus suggèrent que les huiles essentielles pourraient constituer une alternative ou un complément aux antibiotiques synthétiques, en particulier pour les souches bactériennes résistantes. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier les composés actifs spécifiques et pour évaluer leur efficacité et leur sécurité à des concentrations thérapeutiques.

Mots-clés: Phytothérapie, huiles essentielles, activité antibactérienne, hydrodistillation, Gram positif, Gram négatif, composés phénoliques, composés terpéniques.

Abstract

Medicinal plants are an essential source of new drugs. Phytotherapy, which uses plant extracts to treat various diseases, is considered an alternative or complementary medicine to classical pharmacy. The search for new therapeutic molecules is a public health priority, and essential oils extracted from aromatic and medicinal plants offer a promising avenue.

In this study, we explored the antibacterial effect of an essential oil extracted from the leaves of medicinal plants. The essential oil extraction was carried out by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus. The antimicrobial activity of the oil was evaluated by the agar diffusion method. A variety of bacterial strains, both Gram-positive and Gram-negative, were tested, including *Klebsiella ornithimolytica*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus sp.*

The results showed a variation in the antibacterial effect of the essential oil depending on the bacterial strains tested. Certain strains were found to be moderately sensitive to the effect of the oil, with inhibition diameters ranging between 3 and 33 mm.

Essential oils have antibacterial activity due to biologically active molecules, such as phenolic and terpenic compounds. The efficacy of the essential oil varies depending on the bacterial strain and the concentration used. Gram-positive bacteria are generally more sensitive to the action of essential oils due to the structure of their cell wall, which differs from that of Gram-negative bacteria.

This study highlights the potential of essential oils as natural antibacterial agents. The results obtained suggest that essential oils could be an alternative or complement to synthetic antibiotics, particularly for resistant bacterial strains. Further research is needed to identify specific active compounds and to assess their efficacy and safety at therapeutic concentrations.

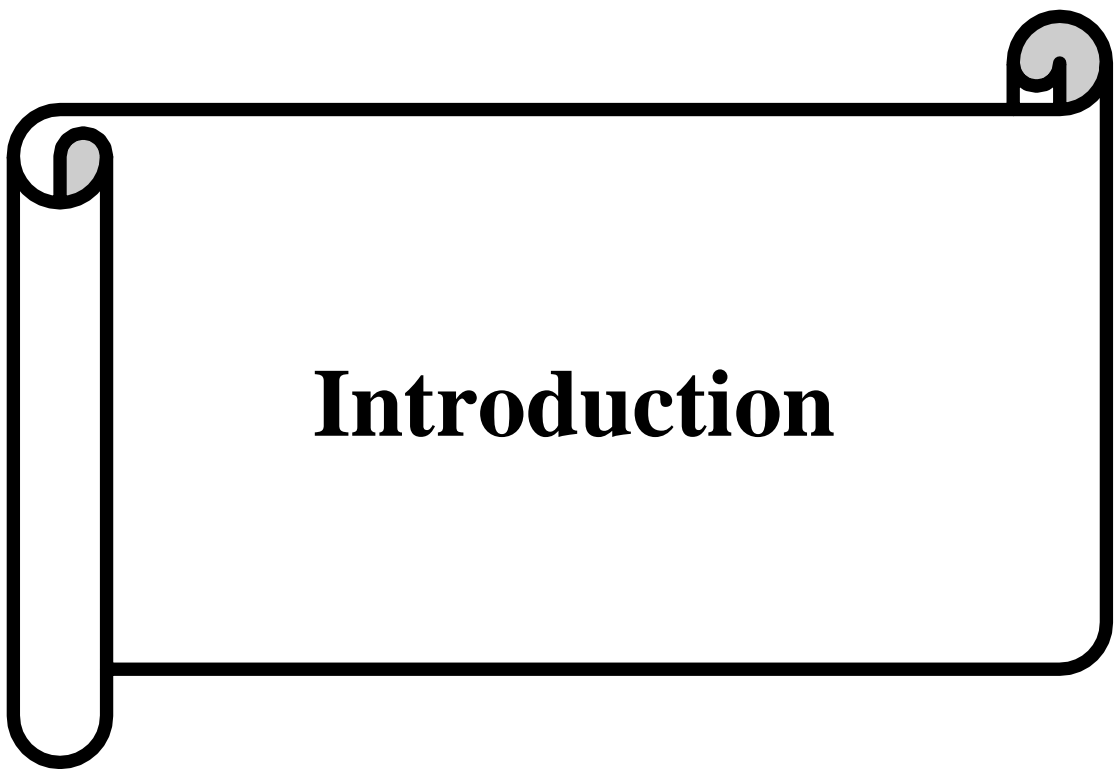
Keywords: essential oils, antibacterial activity, hydrodistillation, Gram-positive, Gram-negative, phenolic compounds, terpenic compounds.

النباتات الطبية هي مصدر أساسي للأدوية الجديدة. يعتبر العلاج بالنباتات، الذي يستخدم المستخلصات النباتية لعلاج الأمراض المختلفة، بمثابة طب بديل أو مكمل للصيدلة التقليدية. يعد البحث عن جزيئات علاجية جديدة أولوية في الصحة العامة، وتوفر الزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات العطرية والطبية وسيلة واعدة.

في هذه الدراسة، قمنا باكتشاف التأثير المضاد للبكتيريا للزيت العطري المستخرج من أوراق النباتات الطبية. تم استخلاص الزيت العطري عن طريق التقطير المائي باستخدام جهاز من نوع كليفنجر. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للزيت بواسطة طريقة انتشار الأجار. تم اختبار مجموعة متنوعة من السلالات البكتيرية، إيجابية الجرام وسالبة الجرام، بما في ذلك *Klebsiella aureus* و *Streptococcus sp.* وأظهرت النتائج تبايناً في التأثير المضاد للبكتيريا للزيت العطري اعتماداً على السلالات البكتيرية التي تم اختبارها. تم العثور على سلالات معينة حساسة بشكل معتدل لتأثير الزيت، مع أقطار تثبيط تتراوح بين 3 و 33 ملم. تمتلك الزيوت العطرية نشاطاً مضاداً للبكتيريا بسبب الجزيئات النشطة بيولوجياً، مثل مركبات الفينول والتيربين. تختلف فعالية الزيت العطري حسب السلالة البكتيرية والتركيز المستخدم. تكون البكتيريا إيجابية الجرام بشكل عام أكثر حساسية لعمل الزيوت العطرية بسبب تركيبها جدارها الخلوي يختلف عن جدار البكتيريا سالبة الجرام.

تسلط هذه الدراسة الضوء على إمكانات الزيوت العطرية كعوامل طبيعية مضادة للبكتيريا. وتشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن الزيوت الأساسية يمكن أن تشكل بديلاً أو مكملًا للمضادات الحيوية الاصطناعية، وخاصة بالنسبة للسلالات البكتيرية المقاومة. هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتحديد مركبات نشطة محددة وتقييم فعاليتها وسلامتها عند التركيز العلاجي.

الكلمات المفتاحية: العلاج بالنباتات، الزيوت العطرية، النشاط المضاد للبكتيريا، التقطير المائي، إيجابية جرام ، سلبية الجرام، المركبات الفينولية، مركبات التربين.



Introduction

Introduction

L'émergence de microorganismes pathogènes multi-résistants constitue un problème de santé publique particulièrement préoccupant. La résistance des germes aux antibiotiques rend parfois les traitements thérapeutiques inefficaces, imposant la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. Le recours aux plantes médicinales apparaît alors comme une piste intéressante à explorer. Actuellement, l'utilisation des produits naturels issus des plantes est en pleine croissance, face aux effets secondaires des composés synthétiques qui peuvent être nocifs pour la santé humaine et l'environnement. Cette tendance pousse les industriels à réduire leur utilisation de composés synthétiques et à se tourner vers des alternatives naturelles.

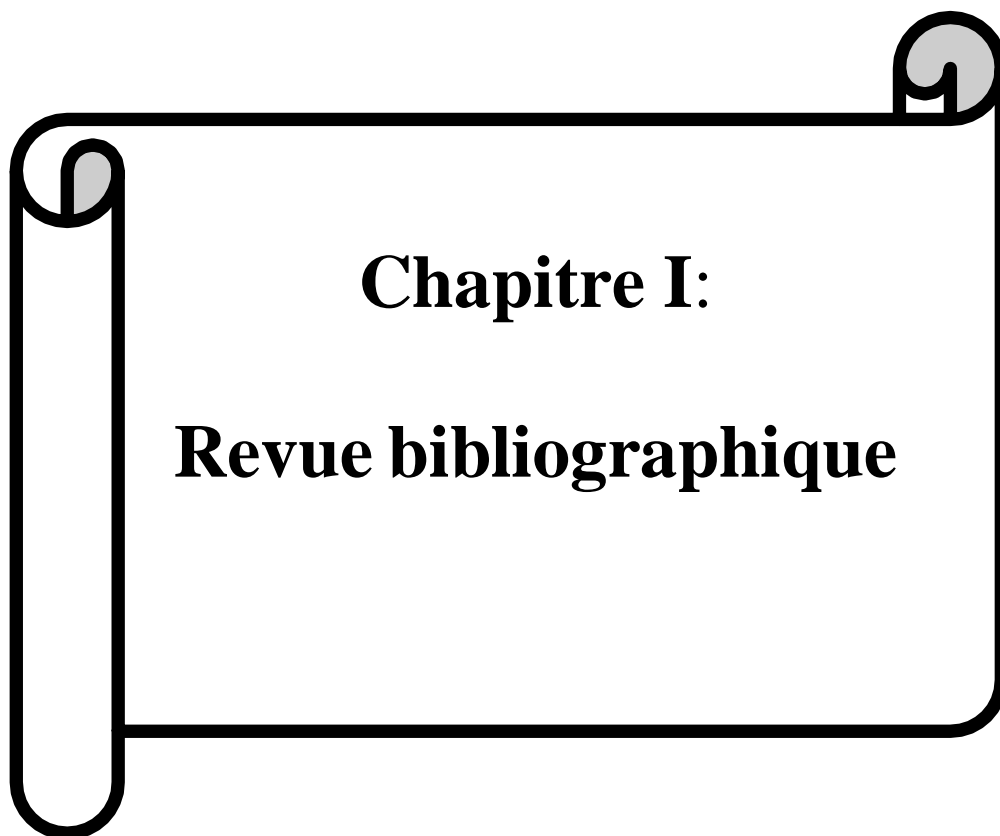
Les huiles essentielles extraites des plantes possèdent diverses propriétés biologiques intéressantes, notamment grâce à leur composition chimique riche en composés terpéniques et non terpéniques. Elles constituent une grande source d'agents antioxydants et antimicrobiens naturels. Les huiles essentielles ont une double action contre les microorganismes : elles peuvent les exterminer (effet bactéricide) et stopper leur prolifération (effet bactériostatique).

Dans ce travail, nous avons choisi d'étudier l'effet antibactérien de trois huiles essentielles : *Rosmarinus officinalis* (romarin), *Mentha longifolia* (menthe longue), et *Mentha pulegium* (menthe pouliot). Nous avons testé ces huiles essentielles sur des bactéries Gram-négatives et Gram-positives, incluant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Klebsiella ornithinolytica*.

Notre mémoire est structuré en trois parties. La première partie comporte une synthèse bibliographique, divisés en trois sections principales une présentation générale des différentes bactéries étudiées, des études des plantes médicinales et de leurs propriétés. et une Analyse de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles contre ces bactéries.

La deuxième partie, Étude Expérimentale, comprend : une Description du matériel utilisé, des Méthodes suivies pour déterminer les agents responsables des infections et tester l'activité antibactérienne des trois huiles essentielles.

Les résultats obtenus seront discutés en détail, et des conclusions générales ainsi que des perspectives pour de futures recherches seront fournies.



Chapitre I:

Revue bibliographique

I Généralités sur les bactéries testées

1 *Streptococcus sp*:

Les bactéries appartenant au genre *Streptococcus* sont des Cocci Gram positif, catalase négative. Ces ont des commensales ou pathogènes chez l'homme et les animaux. Actuellement, 69 espèces et 12 sous-espèces ont été décrites. Les streptocoques ont été classifiés au départ sur le type d'hémolyse α , β ou non hémolytiques. Ce critère n'a plus aujourd'hui qu'une valeur d'orientation. La classification de Lance Field, encore utilisée en clinique, distingue 20 groupes sérologiques (désignés par des lettres de A à H et de K à W) définis sur les propriétés antigéniques d'un polysaccharide C présent dans la paroi des bactéries. Certaines espèces étant dépourvues de cet antigène et ne peuvent pas être classées par cette méthode. D'autre part, des isolats appartenant à des sérogroupes différents peuvent être inclus dans une même espèce et un même séro groupe peut être retrouvé dans des espèces différentes. [1]

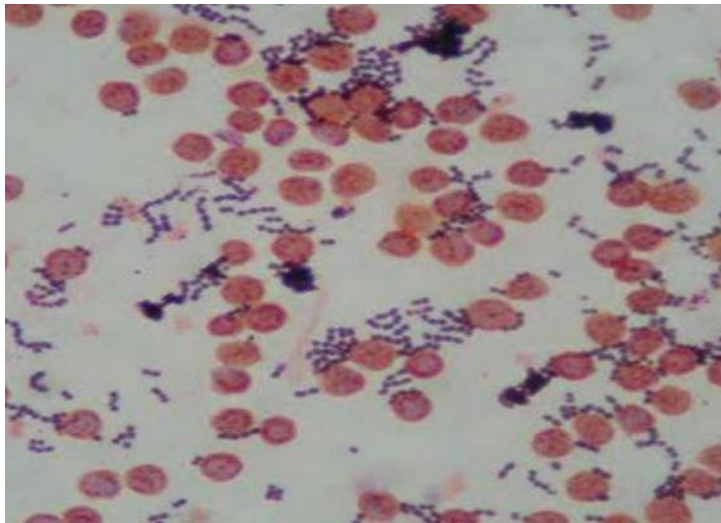


Figure 1 : Hémoculture positive à streptocoques [2]

1.1 Classification:

Domaine : Bactérie.

Phylum : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre Lactobacillales

Famille Streptococcaceae

Genre : *Streptococcus*

Espèce : *Streptococcus sp* [3]

1.2 Habitat:

Bactéries tritement humaine commensale du pharynx surtout, elle peut être aussi isolée chez des porteur sa symptomatiques au niveau du nasopharynx, de lape au, du vagin ou du rectum. [4].

1.3 Pouvoir pathogène:

Les facteurs de virulence c'est l'ensemble des enzymes et de toxines secrétées par la bactérie Contribuant à l'expression du pouvoir pathogène. Ces facteurs sont Essentiellement(Figure02):

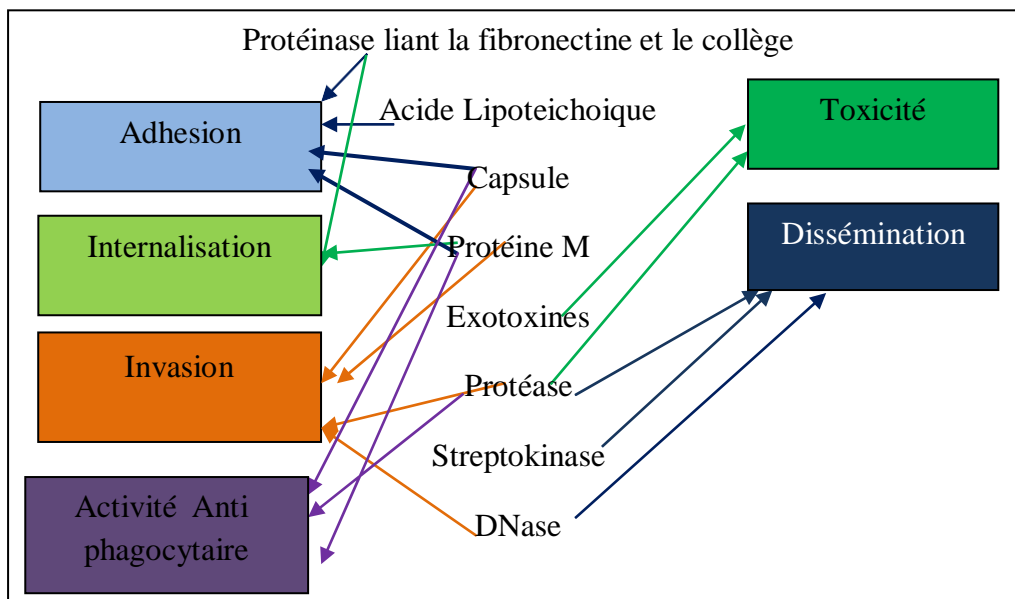


Figure 02 : Principaux facteurs de virulence de Streptococcus pyogenes et leur(s) Implication(s) dans la pathogenèse des infections à SGA. [5]

Par la suite nous avons avoir l'explication de quelque facteurs de risques présentent dans la (figure 02).

Streptomycine O (SLO) : Elle est sécrétée par S.pyogenes et possède une activitéCytotoxique.

Streptodornase B (désoxyribonucléase de type B) : Elle induit la formation d'anticorps(ASD).

La capsule : Elle favorise l'adhésion et la colonisation des tissus de l'hôte.

Protéine m : c'est un facteur de virulence majeur, empeche la phagocytose.

Streptokinase : c'est une protéine liant le plasminogène.

DNase : induit des dommages à l'ADN des cellules hôtes. [6]

1.4 Caractères cultureux :

Anaérobie et aéro-tolérant, le SP est un germe exigeant cultivable sur des milieux enrichies (gélose au sang). Le germe pousse facilement en 18 heures sous 5% de CO₂ à une température comprise entre 20 et 45°C et un pH optimum de 7,2. Il donne des colonies petites, de 0,5 à 1,5 mm, de type S, petites, de 0,5 à 1,5 mm, de type S, transparentes, brillantes, non pigmentées, en goutte de rosée. Les colonies sont entourées rosées. Les colonies sont entourées d'une zone d'hémolyse verdâtre incomplète (α -hémolyse). En anaérobiose, l'hémolyse peut être complète (type β) Ces bactéries sont fragiles, Particulièrement sensibles aux variations de température et souvent incapables de croître lors des repiquages. [7] [8]

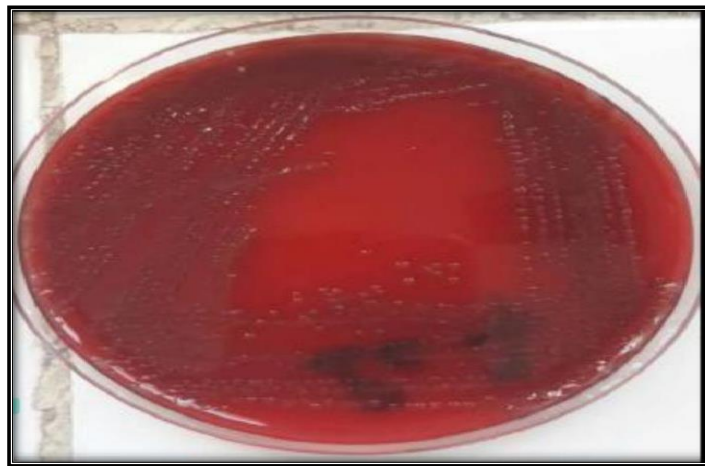


Figure 3: Aspect du Pneumocoque sur une gélose au sang incubé en atmosphère enrichie en CO₂.

[8]

1.5 Résistance aux antibiotiques:

- **Résistance naturelle**

C'est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Les Streptocoques sont tous résistants à l'acide de sodium, au cristal violet, à l'acide nalidixique, aux polymyxines et aux aminosides (résistance naturelle de bas niveau). Cette résistance est due à un défaut de pénétration à travers la paroi cellulaire streptococcique.

- **Résistance acquise**

Elle apparaît chez certaines souches d'une espèce considérée habituellement sensible. Elle intervient soit lors d'une mutation chromosomique, soit lors d'une acquisition de gène par transfert génétique (plasmide ou transposon).

La résistance liée à la présence des plasmides R généralement due à une synthèse de protéines. Elle concerne la quasi-totalité des antibiotiques. Les plasmides R peuvent conférer la résistance à un ou plusieurs antibiotiques appartenant à des familles différentes.

D'une manière générale, la résistance a beaucoup évolué. On a pu cependant remarquer durant ces dernières années que les streptocoques avaient développé certaines résistances aux antibiotiques autres que les bêta-lactamines. Ces résistances sont par ordre décroissant :

- La résistance aux tétracyclines.
- La résistance aux macrolides.
- La résistance au chloramphénicol.
- La résistance aux sulfamides et au triméthoprime. [9]

2 *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus est connue sous le nom de Staphylocoque doré, c'est la souche la plus fréquemment rencontrée en pathologie humaine et vétérinaire. Les staphylocoques ont été observés par Robert Koch (1878) puis reconnus par Louis Pasteur (1880). [10]

2.1 Classification

La classification de l'espèce *Staphylococcus aureus* a été réalisée comme suite [11]

Domaine : bacteria.

Phylum : Firmicutes.

Classe : Bacilli.

Ordre : Bacillales.

Famille : Staphylococcaceae.

Genre : *Staphylococcus*.

Espèces : *Staphylococcus aureus*.

2.2 Habitat

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'Homme et de l'animal. L'habitat préférentiel de *S.aureus* chez l'Homme est la muqueuse nasale avec 10 à 40% d'individus porteurs de façon permanente. [12] Cette bactérie peut être isolée de façon sporadique dans le sol, l'eau douce, le sable de la plage, l'eau de mer, la surface des plantes. Concrètement, elle est largement présente dans les poussières dispersées dans l'air et les surfaces. [10]

2.3 Pouvoir pathogène :

Staphylococcus aureus colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux Cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. Il exerce ensuite son pouvoir pathogène qui est dû, en plus de sa capacité de survie, à la synthèse de multiples facteurs de virulence, il est responsable d'infections au niveau de la peau, des articulations, des os et des systèmes vasculaire et

respiratoire. Il est également responsable d'infections superficielles cutanées, sous-cutanées et muqueuses telles que les furoncles, panaris impétigo, abcès, cellulites ou lymphangites. *S.aureus* est la principale cause d'ostéomyélites, de méningites, d'endocardites infectieuses et d'arthrites septiques, il est un pathogène majeur impliqué dans les infections respiratoires communautaires et nosocomiales. Il est décrit comme capable d'adhérer aux mucines respiratoires. [12]

2.4 Caractères cultureux :

S. aureus poussent aisément sur les milieux usuels (ordinaires) aéro-anaérobies facultatifs [13]. Il est thermosensible le fait qu'il est ralenti par le froid et tué par des températures élevées (détruit à 58°C pendant 60 minutes). [14] C'est une bactérie mésophile (37°C de croissance optimale), neutrophile (pH 7 optimal) et halophile (Se développe à de fortes concentrations de NaCl). [15]

Sur milieu solide, les colonies de *S. aureus* sont lisses, rondes, opaques, colorées en jaune doré ou blanches, leur diamètre est compris entre 1 et 3mm. Sur milieu liquide, il présente un trouble homogène abondant avec dépôt et voile en surface [14]. Les colonies cultivables sur gélose au sang peuvent être bêta-hémolytiques. [16]

S. aureus se distingue de la majorité des autres staphylocoques par la production d'une coagulase, d'un pigment doré et par son caractère bêta-hémolytique sur milieu au sang.

[17]

Tableau 01: principaux caractères d'identification de l'espèce *Staphylococcus aureus*. [11]

Morphologie	Cocci sphérique de 0,5 - 1 µm de diamètre regroupé en amas
Coloration de Gram	Bactérie à Gram +
Mobilité	Immobile
Type respiratoire	Aérobie facultative
Oxydase	+
Catalase	+
Coagulase	+
Température de croissance Comprise	entre 10-45°C

2.5 Résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* est un phénomène complexe qui implique des mécanismes de résistance naturels et acquis. Voici les clés pour comprendre ce phénomène :

- **Résistance naturelle :**

Staphylococcus aureus est naturellement susceptible à la plupart des antibiotiques, mais il possède des mécanismes de résistance intrinsèques, tels que la production de pénicillinases, qui dégradent les antibiotiques bêta-lactamines. [18]

- **Résistance acquise :**

Cette résistance est acquise par transfert horizontal de gènes, mutations chromosomiques et sélection antibiotique. Les souches de *S. aureus* peuvent acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques en se déplaçant dans des environnements où ces antibiotiques sont utilisés.

Les souches de *S. aureus* multi résistantes (SARM) ont été identifiées, résistantes à plusieurs antibiotiques, y compris la pénicilline, la streptomycine, l'érythromycine, la tétracycline, le chloramphénicol et les sulfamides.

Les souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) ont été signalées, notamment en raison de la production d'une protéine liant les pénicillines (PLP2a). [19]

3 *Klebsiella ornithinolytica* :

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des entérobactéries immobiles et capsulées. On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques. Elles expriment des antigènes K, capsulaires utilisables comme marqueurs épidémiologiques. [20] L'espèce type est *Klebsiella ornithinolytica*.

3.1 classification :

La classification de l'espèce *Klebsiella ornithinolytica* a été réalisée comme suite : [21]

Domaine : Bacteria

Embranchement : Pseudomonadota

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Enterobacterales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : *Klebsiella*

Espèce : *Klebsiella ornithinolytica*

3.2 Habitat :

Le genre *Klebsiella* est apparemment omniprésent en termes d'associations d'habitats. *Klebsiella* est un pathogène opportuniste courant pour les humains et d'autres animaux, en plus d'être une flore résidente ou transitoire (en particulier dans le tractus gastro-intestinal). Les autres habitats comprennent les eaux usées, l'eau potable, les sols, les eaux de surface, les effluents industriels et la végétation.[22]

3.3 Pouvoir pathogène :

Les infections nosocomiales sont des infections acquises à l'hôpital, elles représentent un sujet d'actualité d'importance considérable en ce qui concerne le taux de mortalité et de morbidité ainsi que le surcoût qui augmente chaque année. *Klebsiella* est l'un des agents pathogènes les plus rencontrés dans ces infections. [23]

3.4 Caractères cultureux :

Klebsiella ornithinolytica forme souvent des colonies mucoïdes Sur gélose MacConkey, la culture de *K. ornithinolytica* est possible mais son caractère a été considéré comme une des caractéristiques du genre *Klebsiella*

En résumé, *K. ornithinolytica* présente les caractéristiques culturelles typiques du genre *Klebsiella*, avec une croissance possible sur milieux gélosés usuels comme le MacConkey, et la formation fréquente de colonies mucoïdes liée à sa capsule. [24]

3.5 Résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques de *Klebsiella ornithinolytica* est principalement due à la production de bêta-lactamases, notamment les enzymes de classe A, B et D, ainsi que les enzymes à spectre étendu (ESBL) et les carbapénémases. Les souches de *K. ornithinolytica* peuvent également présenter une résistance naturelle aux pénicillines, en particulier l'ampicilline et la carbénicilline. Les mécanismes de résistance incluent également la production d'ampicilline et de ticarcillin, qui sont le résultat de bêta-lactamases chromosomiques. [25]

4 *Pseudomonas aeruginosa*

La bactérie pathogène opportuniste actuellement connue sous le nom de *P. aeruginosa* a reçu plusieurs noms à travers son histoire sur la base de ses cultures de coloration bleu-vert caractéristique produisant le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine, ainsi que son odeur aromatique caractéristique (seringat). Le chirurgien Charles-Emmanuel Sedillot en 1850 fut le premier à observer que la coloration de pansements chirurgicaux a été associée à un agent transmissible. C'est en 1869 que Fordos a souligné que la coloration était due à un pigment

bleu cristallin appelé pyocyanine .

P. aeruginosa a été isolé pour la première fois treize ans plus tard en 1882 par Gessard qui a démontré que ce pigment a été le produit d'un organisme, *Bacillus pyocyaneus* (bacille pyocyanique). [26]

4.1 Classification :

La classification de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* a été réalisée comme suite [27] :

Domaine : bacteria

Phylum : Protobacteria

Classe : Gammaprotobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Pseudomonadaceae

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas aeruginosa*

4.2 Habitat :

P. aeruginosa est une bactérie hydro tellurique ubiquitaire, parfois commensale du tube digestif de l'homme, saprophyte, répandue dans les zones humides : le sol, les lacs, les rivières, l'eau polluée, les piscines et les jacuzzis. Elle est largement répandue dans les poussières et les aliments crus (particulièrement les légumes : tomates, carottes). L'hôpital constitue ainsi une niche favorable à son développement où différents réservoirs ont été identifiés, tels que les réseaux d'eaux et les siphons des éviers. [26]

4.3 Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa est un agent pathogène opportuniste essentiellement responsable d'infections nosocomiales. Une enquête méditerranéenne de prévalence en 2010, le classe comme étant le troisième principal agent des infections nosocomiales, juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*[28], il est un commensal du tube digestif, peu abondant chez l'homme en bonne santé (2 à 10 % de porteurs), mais la proportion de porteurs asymptomatiques chez les patients hospitalisés (essentiellement des personnes immunodéprimées) peut atteindre 50% sur certains sites et 60 % sur les plaies de brûlures ou d'escarres. [29]

4.4 Caractères culturels:

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie très peu exigeante se multipliant sur des milieux synthétiques simple. Elle pousse facilement en 2 heures à une température de 37° C et peut se développer à des températures variables (5 – 42 °C, l'optimum étant 30 °C) mais supporte de

moindres variations de pH (6.5 - 7.5, l'optimum étant 7.2). Aérobies strictes, les bactéries de accepteurs d'hydrogène, en conséquence dans les milieux anaérobies contenant des nitrates, elle cultive dans toute la hauteur de tube. Le bouillon est troublé avec développement d'un voile en surface, parfois limité à un simple anneau adhérent aux parois du tube. La surélevées, opaques, à surface assez dépolie, limite par un bord régulier ou finement dentilé, prenant en vieillissant des reflets métalliques. On peut aussi observer des formes rugueuses ou des formes muqueuses. Les dissociations sont fréquentes. En 2 à 4 jours, on assiste souvent à un bleuissement ou verdissement des milieux de culture dû aux pigments diffusibles élaborés par la bactérie. [30] [31]

4.5. Résistance aux antibiotiques

Pseudomonas aeruginosa est naturellement résistant aux pénicillines des groupes V, G, M et A, aux céphalosporines de première et deuxième génération, à la plupart des céphalosporines de troisième génération, aux quinolones de première génération et à la kanamycine, et est caractérisé par son aptitude particulière à acquérir et cumuler de nombreux mécanismes de résistance pendant le traitement d'une infection. En outre, il a toujours été considéré comme un microorganisme difficile à traiter [32]. Malheureusement, la perspective d'avoir de nouveaux agents antipseudomonal à l'utilisation clinique dans un avenir proche n'est pas prometteur. [26]

5 *Escherichia coli* :

Escherichia coli est une bactérie Gram négative, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Elle est sous forme de bacille mobile grâce à une ciliature péritriche (figure 04), vivant isolée ou groupée par paire. Elle mesure environ 3µm pour un diamètre de 0.5µm [33]. Ce micro-organisme est un hôte commensal du microbiote intestinal des animaux et de l'humain [34]. Il est doté d'une capsule polysaccharidique, cette dernière rend la phagocytose difficile et inhibe l'action des défenses immunitaires de son hôte. De plus, cette bactérie est pourvue d'adhésines, appelées fimbriae, qui lui permet d'adhérer aux cellules épithéliales et de résister dans la lumière des canaux lactifères [35]. La multiplication de cette bactérie est extrêmement rapide bien qu'elle soit en partie éliminée pendant la traite ; ainsi en 8h une bactérie peut produire 16 millions de nouvelles cellules bactériennes. C'est une bactérie peu contagieuse, parfois est absente dans des analyses bactériologiques, le fait qu'elle est excrétée en petite quantité et par intermittence [33] [36]

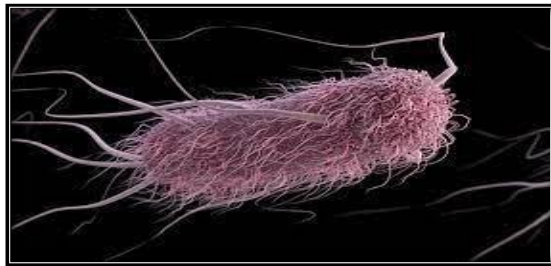


Figure 04 : Photo microscopique d'*Escherichia coli* [37]

5.1 Classification :

Domaine : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Entérobactérie

Famille ; Enterobactériaceae

Genre : Escherichia

Espèce : *Escherichia coli*. [38]

5.2 Habitat :

Les *E. coli* sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud qu'ils colonisent dès les premières heures de la naissance. La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et les aliments témoigne d'une contamination fécale. [39]

5.3 Pouvoir pathogène :

E. coli est responsable d'infections extra-intestinales, infections urinaires, infections abdominales et septicémies avec choc septique du à l'endotoxine O et d'infections intestinales l'existence des diarrhées à *E. coli* est connue depuis 1940. Ces diarrhées sont dues à des souches de sérotypes particuliers qui provoquent soit des cas sporadiques, soit des petites épidémies. [40] [41]

5.4 Caractères cultureux :

Culture facile sur milieux ordinaires à base de peptone ou d'extraits de viande. Sur les milieux gélosés après 24h d'incubation à 37°C, *E. coli* se développe en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur le milieu Mac Conkey, les colonies d'*E. coli* lactose positive sont de couleur rose à rouge plates et sèches. Sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques. Sur milieu Hektoen, elles sont de couleur orange, sèche et malodorante. [42]



Figure.05 : *Escherichia coli* sur milieu Hektoen [43]

5.5 Résistance aux antibiotiques :

- **Résistance naturelle**

Escherichia coli est une entérobactérie, qui comme toutes les entérobactéries présente une résistance naturelle aux glycopeptides et à la pénicilline G. Elle appartient au groupe 1 des Entérobactéries qui sont naturellement sensibles à l'ensemble des bêta-lactamines. [44]

- **Résistance acquise**

Certaines souches ont acquis de nouveaux mécanismes de résistance leur permettant d'échapper aux antibiotiques. La résistance d'*E. coli* aux bêta-lactamines est due à une inactivation de l'antibiotique par l'acquisition d'enzymes. Trois principaux types d'enzymes sont répertoriés : les pénicillinases, une enzyme dite TRI (pour TEM résistant inhibiteur) et les céphalosporinases. [44]

6 *Enterobacter Cloacae* :

6.1 Classification :

Les membres du complexe *Enterobacter cloacae* (ECC) sont d'importants agents pathogènes nosocomiaux opportunistes associés à une grande variété d'infections. En raison des données limitées sur la classification des espèces basée sur le génome et de l'enquête sur les mécanismes de résistance, dans ce travail, nous avons collecté 172 isolats cliniques d'ECC entre 2019 et 2020 dans trois hôpitaux du Zhejiang, en Chine et effectué un séquençage rétrospectif du génome entier pour analyser leur structure de la population et mécanismes de résistance aux médicaments. [45]

-La classification de l'espèce *Enterobacter Cloacae* a été réalisée comme suite [46] :

Domaine : Bacteria

Embranchement : Pseudomonadota

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Enterobacterales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : Enterobacter

Espèce : *Enterobacter cloacae*

6.2 Habitat :

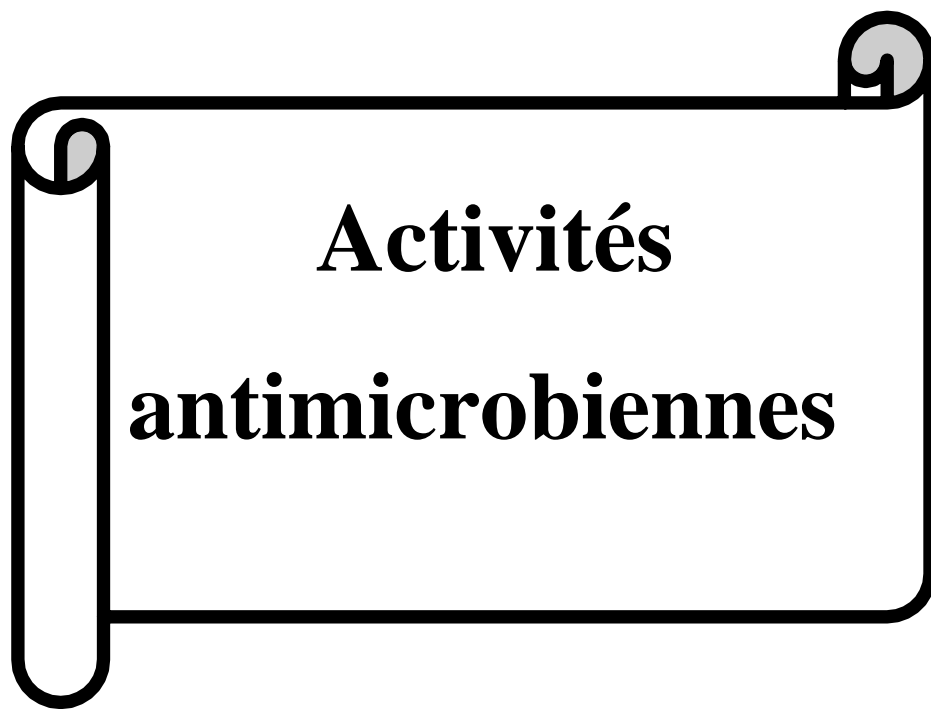
Enterobacter cloacae a été récupéré dans les sédiments de surface d'un canal de contrôle des crues dans une zone où le ruissellement d'eau douce se mélangeait à l'eau de mer côtière. Les cellules de cette bactérie ont élaboré une capsule étendue lorsqu'elles sont cultivées dans des conditions de laboratoire conçues pour favoriser la production de polysaccharides extracellulaires. La colonisation des surfaces vitrées par les cellules était similaire dans des conditions aérobies et anaérobies. [47]

6.3 Pouvoir pathogène :

Enterobacter aerogenes et *E. cloacae* ont été signalés comme d'importants agents pathogènes bactériens opportunistes et multi résistants pour les humains au cours des trois dernières décennies dans les services hospitaliers. Ces bactéries à Gram négatif ont été largement décrites lors de plusieurs foyers d'infections nosocomiales. [48]

6.4 caractères cultureux :

En vue du risque augmenté jour après jour des bactéries résistantes aux antibiotiques, nous nous sommes intéressés dans cette étude à l'isolement et à la caractérisation des isolats de moisissures productrices d'antibiotique à partir d'aliments locaux du Burkina Faso. Cinquante (50) isolats fongiques isolés ont servis au test d'antibiogramme qui a révélé vingt (20) isolats producteurs de substances antimicrobiennes. Ce test a concerné les cellules des isolats ainsi que des extraits aqueux et organiques issues de ceux-ci. Trois (03) isolats ont présenté des diamètres d'inhibitions moyens de 20 mm sur les germes tests. Leur caractérisation a porté sur les critères morphologiques et cultureux. [49].



**Activités
antimicrobiennes**

1 Généralités sur menthe pouliot (*Mentha pulegium*)

1.1 Définition :

Mentha pulegium est un genre de la famille des labiées incluant 20 espèces répandues dans le monde entier. Ces plantes portent le nom d'une nymphe grecque métamorphosée en végétal. La *Mentha pulegium* est une herbacée vivace très odorante à inflorescence formée de nombreux verticilles très denses, feuillés, distants [50]

1.2 Étymologie :

Le nom de « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* : la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces. La menthe pouliot, connue sous le nom vernaculaire arabe de «fliyou», est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures. Elle est représentée par deux sous espèces: *Mentha pulegium ssp. vulgaris* et *Mentha pulegium ssp. pulegium*. Cette dernière fera l'objet de notre étude. [51]

1.3 Etude botanique de *Mentha pulegium* L.

1.3.1 Description botanique :

Mentha pulegium Famille des *Lamiacées* (*Lamiaceae*) ou *Labiées* (*Labiatae*), vivace, pubescente, couchée, parfois dressée de petite taille à taille moyenne (10 à 30 cm de haut, 45 de large) radicante, généralement poilue, à tiges florifères dressées, fortement aromatique à odeur piquante avec des petites feuilles étroites elliptiques à ovales, à peine dentées, à pétiole court, souvent poilues au revers avec des bractées foliacées .

Les parties aériennes de la plante sont pubescentes portant trichomes glandulaires qui sont responsables de la sécrétion d'huile essentielle. La morphologie, la distribution et la fréquence de ces trichomes glandulaires sont des caractéristiques distinctives entre les espèces de *Lamiacées*. L'odeur caractéristique qui se dégage par simple touché. [52]

1.3.2 Répartition géographique :

Mentha pulegium a une répartition géographique largement influencée par ses besoins écologiques en humidité et en lumière. Originnaire des régions méditerranéennes, elle s'est répandue dans de nombreuses autres régions du monde, s'établissant principalement dans les habitats humides. Sa capacité à s'adapter et à se propager facilement en fait une plante présente dans divers environnements, bien qu'elle puisse devenir invasive dans certaines zones.[53]

❖ Répartition Naturelle

Mentha pulegium est originaire des régions méditerranéennes. On la trouve couramment dans les pays suivants :

-**Europe du Sud** : Elle est particulièrement abondante dans les pays méditerranéens comme l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la France.

-**Afrique du Nord** : Présente dans des pays tels que le Maroc, l'Algérie et la Tunisie.

-**Asie Occidentale** : On la retrouve également en Turquie, en Syrie et en Iran.

❖ *Répartition Introduite* :

En plus de sa répartition naturelle, *Mentha pulegium* a été introduite dans plusieurs autres régions où elle a réussi à s'établir :

Amérique du Nord : Elle est naturalisée dans certaines parties des États-Unis et du Canada, souvent dans les zones humides et les prairies humides.

Australie : Introduite et naturalisée principalement dans les zones humides du sud-est du pays.

Nouvelle-Zélande : Présente dans certaines régions humides et marécageuses.

Habitats Préférés

Mentha pulegium préfère les habitats humides et ensoleillés. On la trouve généralement dans :

- **Prairies humides** : Près des rivières, des lacs et des marais.
- **Bords des cours d'eau** : Le long des ruisseaux et des zones inondées périodiquement.
- **Zones perturbées** : Tels que les fossés, les bordures de routes et les terres agricoles abandonnées. [54]

Adaptations Écologiques

Mentha pulegium montre une grande capacité d'adaptation à divers types de sols, bien qu'elle préfère ceux qui sont bien drainés mais humides. Elle tolère également des conditions de lumière variées, bien qu'elle prospère mieux en plein soleil. [55]

Cette espèce sauvage pousse dans les zones humides et généralement marécageuses, près des routes, et elle est plus abondante dans les pâturages de montagnes [56] Elle pousse dans des montagnes jusqu'à 2200 mètres d'altitude. Il existe de nombreuses espèces de *Menthe* sauvage telle *Mentha Pulegium L.* est très abondante et pousse spontanément en Algérie [57].

1.3.3 Classification :

Règne : Plantae

Embranchement: Phanérogames ou Spermaphytes

Sous-embranchement: Angiospermes

Classe : Eudicots

Sous-classe : Astéridées

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : *Mentha* (Tourn.) L.

Espèce : *Mentha pulegium* L [58]

1.3.4 Composition Chimique

Mentha pulegium est riche en divers composés bioactifs :

Huiles essentielles : Le principal composé est la pulégone, mais on trouve également du menthol, du menthone, et du pipéritone.

Flavonoïdes : Comprend des composés comme la lutéoline, l'apigénine et leurs dérivés.

Acides phénoliques : Tels que l'acide rosmarinique et l'acide caféique.

Usages Traditionnels

Historiquement, *Mentha pulegium* a été utilisé pour divers usages :

-Culinaire : Utilisé comme herbe aromatique pour assaisonner les plats.

-Médicinal : Traditionnellement utilisé pour traiter les troubles digestifs, les infections respiratoires, et comme emménagogue pour stimuler la menstruation.

-Insectifuge : Employé pour repousser les insectes grâce à son odeur forte et désagréable pour ces derniers.

❖ *Propriétés Pharmacologiques*

- **Antimicrobien** : L'huile essentielle de *M. pulegium* possède des propriétés antimicrobiennes contre une variété de bactéries et de champignons.
- **Antioxydant** : Les composés phénoliques et flavonoïdes contribuent à ses effets antioxydants, neutralisant les radicaux libres et protégeant les cellules du stress oxydatif.
- **Anti-inflammatoire** : Les extraits de la plante montrent des propriétés anti-inflammatoires dans divers modèles expérimentaux.
- **Emménagogue** : Utilisé traditionnellement pour induire les menstruations en raison de la pulégone, mais cette utilisation est controversée en raison de la toxicité potentielle.

Usages Modernes

Aujourd'hui, *Mentha pulegium* est utilisée principalement dans les domaines suivants :

- **Phytothérapie** : Utilisée dans certaines préparations à base de plantes pour ses effets antimicrobiens et anti-inflammatoires.
- **Aromathérapie** : Les huiles essentielles sont utilisées en diffusion pour leurs propriétés insectifuges et pour soulager certains symptômes respiratoires.

- **Cosmétique** : Intégrée dans des produits de soin pour ses propriétés antiseptiques et rafraîchissantes. [53, 54]

2 Généralités sur *la mentha longifolia* :

2.1 Définition :

L'huile de menthe poivrée a une odeur forte, fraîche et rafraichissante Elle est couramment utilisée comme arôme dans les aliments et les boissons et comme parfum dans les savons et les cosmétiques. L'huile de menthe poivrée est également utilisée pour divers problèmes de santé et peut être prise par voie orale dans des compléments alimentaires, ou par voie topique sous forme de crème ou de pommade pour la peau. [59]

2.2 Etymologie :

Son étymologie nous vient de la mythologie grecque. Quand Hadès, Dieu des enfers, s'éprit d'une nymphe nommée Minthè, son épouse, Perséphone, fut frappée par la jalousie. Cette liaison lui déplut si fortement qu'elle piétina la nymphe et la transforma en végétal. Dans certaines versions de la mythologie, il est raconté qu'Hadès lui aurait donné son parfum afin de garder pour lui le souvenir de leur passion Originaires du Sud de l'Europe et du Proche-Orient, la menthe est aujourd'hui consommée partout à travers le monde. [60]

Longifolia: est d'origine latine et se décompose en deux parties : "longus" signifiant "long" et "folium" signifiant "feuille". Cette dénomination décrit les feuilles allongées de cette espèce de menthe, mettant en avant une caractéristique physique notable de la plante. [61]

2.3 Etude botanique de *mentha longifolia*

2.3.1 Description de la plante :

Mentha longifolia ou menthe sauvage est une plante herbacée vivace à croissance rapide qui rampe le long d'un porte-greffe souterrain. Il peut atteindre jusqu'à 1,5 m de haut dans des conditions favorables, mais il mesure généralement entre 0,5 et 1 m de haut et est encore plus court dans des conditions sèches. Fortement aromatiques, les feuilles sont formées par paires opposées le long de la tige de forme carrée. Les feuilles molles et lancéolées (longues et étroites avec une pointe acérée) mesurent 45 et 100 mm de long et 7 à 20 mm de large. Les feuilles sont généralement grossièrement poilues et les bords sont peu dentés. La couleur des feuilles varie du vert clair et foncé au gris. Les petites fleurs de *Mentha longifolia* sont regroupées en épis au bout des tiges. De couleur variant du blanc au mauve, cette menthe sauvage fleurit tout au long des mois d'été. [62]

2.3.2 Répartition Géographique de *Mentha longifolia*

Mentha longifolia, ou menthe à longues feuilles, possède une répartition géographique assez vaste en raison de sa capacité d'adaptation à différents environnements. :

-En Europe: Elle est largement répandue dans toute l'Europe, depuis le sud de l'Espagne et le Portugal jusqu'aux pays nordiques. On la trouve dans des pays comme la France, l'Italie, l'Allemagne, la Grèce, et les Balkans. Elle préfère les milieux humides comme les bords des rivières, les fossés, les prairies humides et les lisières de forêts.

-En Asie: Elle est présente en Asie de l'Ouest, y compris en Turquie, au Caucase, en Iran, et en Afghanistan. Son aire de distribution s'étend jusqu'au sud-ouest de la Sibérie. Semblable à l'Europe, elle colonise les zones humides et riveraines.

-En Afrique: *Mentha longifolia* est également trouvée en Afrique du Nord, notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Libye, et en Égypte.

En Afrique, elle pousse dans des habitats similaires aux autres régions, privilégiant les zones humides et bien drainées.

Autres Régions: Bien que native des régions mentionnées ci-dessus, *Mentha longifolia* a été introduite et naturalisée dans d'autres parties du monde, telles que l'Australie, la Nouvelle Zélande, et certaines parties de l'Amérique du Nord.

Dans ces régions, elle s'adapte bien aux milieux humides et est souvent trouvée près des cours d'eau et des zones irriguées.

- **Conditions Écologiques Favorables**

Sol : Elle préfère les sols bien drainés mais peut tolérer une variété de conditions de sol, y compris les sols sablonneux et argileux.

Climat : *Mentha longifolia* se développe mieux dans les climats tempérés à chauds. Elle tolère des périodes de sécheresse modérée mais pousse de manière optimale dans des conditions où l'eau est disponible en abondance.

- **Importance de la Répartition**

La large répartition géographique de *Mentha longifolia* témoigne de sa robustesse et de sa capacité à s'adapter à divers environnements [63]

2.3.3 classification :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : Mentha

Espèce : *Mentha longifolia*. [64]

2.3.4 Composition Chimique

Mentha longifolia contient une variété de composés bioactifs :

Huiles essentielles : Les principaux composants sont le menthol, le menthone, le 1,8-cinéole, et le piperitone.

Flavonoïdes : Incluant la lutéoline, l'apigénine et leurs dérivés.

Acides phénoliques : Tels que l'acide rosmarinique et l'acide caféique.

Triterpènes : Comme l'acide ursolique et l'acide oléanolique.

Usages Traditionnels

Historiquement, *Mentha longifolia* a été utilisée pour divers usages :

Culinaire : Utilisée comme herbe aromatique dans la cuisine méditerranéenne et moyen-orientale.

Médicinal : Traditionnellement employée pour traiter les troubles digestifs, les infections respiratoires, et comme antispasmodique.

Rituels et culturels : Utilisée dans certaines cultures pour ses propriétés purifiantes et aromatiques.

Propriétés Pharmacologiques

- **Antimicrobien** : L'huile essentielle de *M. longifolia* possède des propriétés antimicrobiennes contre une variété de bactéries et de champignons.
- **Antioxydant** : Les composés phénoliques et flavonoïdes contribuent à ses effets antioxydants, neutralisant les radicaux libres et protégeant les cellules du stress oxydatif.
- **Anti-inflammatoire** : Les extraits de la plante montrent des propriétés anti-inflammatoires dans divers modèles expérimentaux.
- **Antispasmodique** : Utilisée pour soulager les spasmes musculaires, notamment dans les troubles gastro-intestinaux.
- **Analgésique** : Certains composés de la plante peuvent aider à soulager la douleur.

❖ *Usages Modernes*

Aujourd'hui, *Mentha longifolia* est utilisée principalement dans les domaines suivants : -

Phytothérapie : Utilisée dans des préparations à base de plantes pour ses effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et antispasmodiques.

-Aromathérapie : Les huiles essentielles sont utilisées en diffusion pour leurs propriétés rafraîchissantes et antiseptiques.

-Cosmétique : Intégrée dans des produits de soin pour ses propriétés apaisantes et rafraichissantes.

3.3 Étude botanique du romarin :**3.3.1 Description de la plante :**

C'est un arbrisseau, toujours vert de 1m à 2m de hauteur, touffu, très rameux couvert d'une écorce écailleuse portant des tiges ligneuses feuillées généralement érigées. Les feuilles sont opposées, persistantes, aromatiques, sessiles, étroites et linéaires. Elles sont réfléchies sur les bords, luisants et verdâtres sur la face supérieure. Les fleurs, insérées en grappes axillaires à corolle de type labiée sont de couleur bleu pale à bleu violet clair. Le romarin tire son nom du latin *ros marinus*, qui signifie " rosée de mer ", reconnu pour sa saveur piquante et parfumée assez prononcée [71] (fig07)



Figure 07 : Aspect morphologique de romarin [72].

3.3.2 Répartition géographique :

Le romarin spontané qui pousse sur le bassin méditerranéen, et le sud-ouest de l'Asie, est souvent cultivé dans les jardins comme clôture, très exigeant en lumière et en chaleur, et résistant à la sécheresse. Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne [73].

En Algérie, le romarin est l'une des sept espèces végétales excédant 50,000 hectares sur le territoire national. [72]

3.3.3 Classification :

Tableau 02 : Classification de romarin [74]

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales (labiales)
Famille	Lamiaceae
Genre	Rosmarinus
Espèces	<i>Officinalis</i>

3.3.4 Composants Chimiques

Le romarin est riche en composés bioactifs, notamment :

Huiles essentielles : Les principales composés volatils sont le 1,8-cinéole, le camphre, l' α -pinène et le bornéol. [75]

Phénoliques : Acide rosmarinique, acide caféique et divers flavonoïdes comme la lutéoline et l'apigénine.

Diterpènes : Carnosol et acide carnosique, connus pour leurs propriétés antioxydantes.

Usages Traditionnels

Historiquement, le romarin a été utilisé pour diverses applications :

Culinaire : Comme herbe aromatique dans de nombreuses cuisines méditerranéennes.

Médicinal : Utilisé pour traiter les troubles digestifs, les maux de tête, et comme stimulant circulatoire.

Rituels : Dans certaines cultures, il est utilisé pour ses propriétés symboliques et purificatrices.

Propriétés Pharmacologiques

- **Antioxydant** : Les diterpènes comme le carnosol et l'acide carnosique protègent contre le stress oxydatif et les dommages cellulaires.
- **Anti-inflammatoire** : L'acide rosmarinique et les huiles essentielles montrent des propriétés anti-inflammatoires significatives.
- **Antimicrobien** : Les huiles essentielles possèdent une activité antimicrobienne contre

diverses bactéries et champignons.

- **Neuroprotecteur** : Le romarin peut améliorer la mémoire et les fonctions cognitives, et a montré des effets protecteurs contre les maladies neurodégénératives dans certains modèles animaux.
- **Anticancer** : Des études préliminaires suggèrent que les composés du romarin peuvent inhiber la croissance de certaines cellules cancéreuses. [76]

-Usages Modernes

Aujourd'hui, le romarin est utilisé de manière diversifiée :

-Culinaire : Toujours largement utilisé comme épice et conservateur naturel.

-Cosmétique : Intégré dans des produits pour la peau et les cheveux pour ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.

-Phytothérapie : Utilisé dans des compléments alimentaires et des tisanes pour ses effets bénéfiques sur la santé. [77]

4 Généralités sur les huiles essentielles :

4.1 Définition :

Le terme « huile essentielle » a été inventé au XVI^e siècle par le médecin suisse Paracelse Von Hohenheim pour désigner la composante active d'un remède naturel. Les huiles essentielles sont définies comme étant des liquides concentrés, très complexes et hydrophobes. Ce sont des extraits volatils et odorants qu'on obtient par extraction mécanique, distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec de plantes aromatiques (fleur, feuille, bois, racine, écorce ou fruit). Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. [78]

Les huiles essentielles sont utilisées pour l'aromathérapie, la pharmacologie, la parfumerie, les cosmétiques et le stockage d'aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues. [78]

4.2 Localisation de l'huile essentielle dans la plante :

Les huiles essentielles (HE) se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante, aussi bien dans les fleurs; les feuilles: les fruits et les tiges que dans les écorces, les graines, les racines, les rhizomes ou le bois. Elles se forment dans des cellules sécrétrices variables selon l'organe végétal considéré, puis elles s'accumulent avant qu'elles soient stockées dans des cellules spécialisées regroupées en poches ou en canaux sécréteurs. [79].

4.3 Composition chimique :

La plupart des composants des huiles essentielles ont inclus dans deux groupes : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes :

- **Les terpénoïdes** : Ils représentent le groupe le plus diversifié de métabolites secondaires végétaux et sont basés sur une structure de base à cinq carbones (C₅H₈) communément appelée isoprène.
- **Les phénylpropanoïdes** : Ce sont les composés aromatiques responsables des propriétés organoleptiques des huiles essentielles. Pas aussi commun que les terpénoïdes. Ils sont constitués d'une chaîne carbonée attachée à un cycle aromatique à 6 carbones. [80]

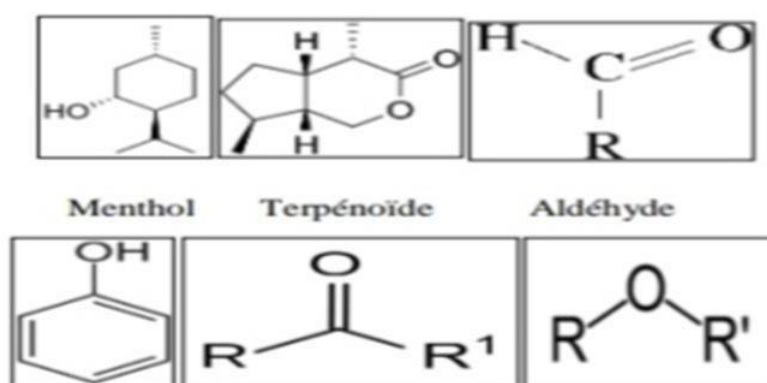


Figure 08: Structure de quelques composés principaux des huiles essentielles. [81]

4.4 Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques liquides à température de la pièce, qui ne sont pas grasses et se volatilisent rapidement. Elles diffèrent en couleur, allant de l'incolore jusqu'à plusieurs teintes comme le bleu pour l'azulène, le rougeâtre pour la cannelle et le vert pour l'absinthe. La plupart ont une densité moindre que l'eau. Certaines, comme celles de cannelle et de girofle, sont plus denses.

Le point d'ébullition des huiles essentielles varie grandement et elles ne sont que peu solubles dans l'eau, mais elles peuvent y communiquer leur arôme. Elles sont solubles dans l'alcool, les huiles fixes et la plupart des solvants organiques. Les huiles essentielles s'oxydent et se résinifient lorsqu'elles sont exposées à l'air et à la lumière, modifiant leur odeur et leurs propriétés physiques.

Elles possèdent un Indice de réfraction élevé, ce qui leur confère des propriétés optiques spécifiques. Bien que les huiles essentielles aient des usages bénéfiques, certaines peuvent être irritantes, allergènes, phototoxiques ou neurotoxiques et doivent être utilisées avec précaution.[82]

4.5 Toxicité

Malgré les activités bénéfiques des huiles essentielles, elles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisées sans risque. Elles sont toxiques à fortes doses et peuvent induire des troubles très graves. Elles sont dangereuses, en raison de leur hépatotoxicité, dermatotoxicité, neurotoxicité, et néphrotoxicité. Elles ont aussi des effets tératogènes, abortifs et cancérogènes. Notons que, certaines précautions, sont nécessaires pour évaluer le danger potentiel des huiles essentielles qui sont susceptibles de représenter à un certain niveau d'exposition afin d'éviter tout risque.[83]

4.6 Effet antibactérien:

Les activités antimicrobiennes des huiles essentielles (HE) sont fortement liées à leur hydrophobie. Cette caractéristique leur permet de pénétrer les cellules microbiennes et d'y provoquer des altérations fonctionnelles et structurales, sachant que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux huiles essentielles (HE) que les bactéries à Gram négatif.[84]



Chapitre II

Matériel et Méthodes

1 Objectif du travail:

Le but de cette étude est de comprendre l'effet antibactérien de quelques huiles essentielles, notamment *Rosmarinus officinalis*, *Mentha longifolia*, *mentha pulegium*, sur différentes souches bactériennes. L'objectif principal est de comparer l'effet de ces huiles entre elles, afin de déterminer leur potentiel en tant qu'agents antibactériens.

Le travail a été réalisé au laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Saad Guermeche à Skikda, sur une période de stage de trois semaines, du 25 février au 14 mars 2024. Au cours de cette période, différentes méthodes d'évaluation de l'effet antibactérien des huiles essentielles ont été utilisées

Pour mener à bien cette étude, différents types de prélèvements ont été effectués, notamment des urines, du sang et du pus, auprès de patients externes ou hospitalisés dans le même à l'hôpital. L'enregistrement de ces prélèvements a été réalisé sur une fiche de renseignement, permettant de documenter les données essentielles concernant chaque échantillon.

2 Matériel:**2.1 Matériel du laboratoire :**

Les différents verreries et appareillages utilisés dans notre travail sont mentionnés dans l'annexe(N°1)

2.2 Produits et les milieux utilisés :

Les produits et milieux de culture utilisés dans notre travail sont mentionnés dans l'annexe (N° 2).

2.3 Matériel biologique :

Tableau 03 : La description des échantillons et le type de prélèvement

les échantillons	type de prélèvement	leur sexe
Echantillon 01	ECBU	F
Echantillon 02	ECBU	F
Echantillon 03	ECBU	F
Echantillon 04	Pus	M
Echantillon 05	Pus	M
Echantillon 04	Hémoculture	M

Afin de déterminer les différentes caractéristiques propres aux souches bactériennes, une série de tests a été réalisée.

3 Ensemencement:

Avant on effectue l'ensemencement selon la méthode des quatre cadrans.



4 Etude macroscopique :

Elle se base sur l'observation macroscopique des colonies obtenues à partir de différents milieux d'isollements mettant en évidence : la taille, la forme, l'aspect et la couleur des colonies.

5 Etude microscopique

Elle correspond à l'observation sous microscope afin de voir la morphologie de la cellule par la réalisation d'un état frais et une coloration de Gram.

- **Etat frais**

Principe : L'examen direct à l'état frais voire l'annexe (N°4).

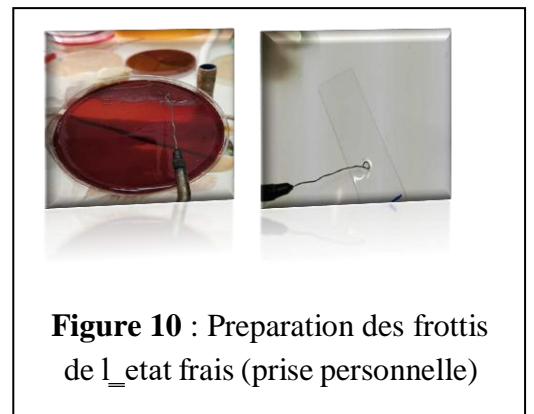
Technique : Toujours dans une zone d'asepsie :

- 1 On prend une lame propre
- 2 On dépose une goutte d'eau distillée
- 3 On prend une petite colonie de la boîte Pétrie à l'aide d'une l'anse de platine stérile.

- 4 Homogénéiser la suspension diluée

- 5 Recouvrir d'une lamelle stérile au-dessus de la lame

Lecture : Observer ensuite au microscope à l'objectif x40



- **Coloration de Gram :**

Voir annexe (N°5)

- Observation au microscope

optique à l'immersion ($G \times 100$).



Figure 11 : les étapes de coloration de Gram
(prise personnelle)

6 Identification biochimique:

a. Test catalase:

Principe: voire l'annexe (N°4).

Technique:

Sur une lame et à l'aide d'une pipette pasteur,

On dépose une colonie bactérienne à laquelle

On ajoute de l'eau oxygénée H_2O_2

b. Test coagulase:

Principe: voire l'annexe (N°4).

Technique : Après incubation, prendre aseptiquement une colonie dans un tube stérile à hémolyse contenu 0,3 ml de plasma de la pin ou de l'homme, et incuber de nouveau à $36 \pm 1^\circ C$ pendant 2 à 6h. Examiner la coagulation du plasma de lapin sinon ré-incuber examiner de nouveau à 20 ± 4 heures.

c. La galerie API20E

Principe : voire l'annexe (N°4).

Mode d'opérateur :

Nous préparons l'inoculum en prélevant à l'aide d'une pipette Pasteur stérile quelques colonies bien isolées puis nous les introduisons dans un tube d'eau physiologique stérile.

Ensuite, nous réunissons les fonds et les couvercles d'une boîte d'incubation, et nous répartissons environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Nous remplissons les tubes et cupules des tests encadrés sont remplis : CIT, VP, GEL, avec la suspension bactérienne. En ne remplissons que les tubes et non cupules des autres tests.

Pour créer une anaérobiose, nous remplissons cupules les tests soulignée est créée : ADH, LDC, ODC, URE, H_2S avec l'huile de paraffine.

Enfin, nous refermons la boîte d'incubation, la codons, et la plaçons à $37^\circ C$ pendant 24 h.

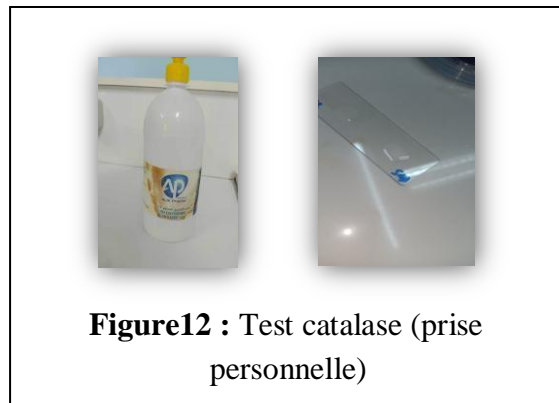


Figure12 : Test catalase (prise
personnelle)



Figure13 : technique de galerie API20E (prise personnelle)

7 Antibiogramme:

Principe: voire l'annexe (N°4).

Mode d'opérateur

a) Préparation de l'inoculum:

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure sur milieu d'isolement (Gélose au sang frais et cuit), quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont réclées à l'aide d'une anse de platine, déchargée dans 5ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. La suspension bactérienne est bien homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0.5 McFarland. Elle est ajustée en ajoutant, soit de la culture à la suspension bactérienne, soit de l'eau physiologique stérile.

b) Ensemencement de l'antibiogramme

Avant tout ensemencement et dans une zone stérile, on coule le milieu de culture (Muller Hinton) dans les boîtes de Pétri, et après leurs séchages et refroidissement, à l'aide d'un écouvillon, on effectue des stries dans un mouvement de va-et-vient uniquement sur la surface (quatre carrés), puis on refait la même technique pour le reste des boîtes.

c) Application des disques :

Enfin les disques d'antibiotiques ont été appliqués sur la gélose en pressant chaque disque à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour assurer de leur application, après une incubation de 24 h à 37° C.

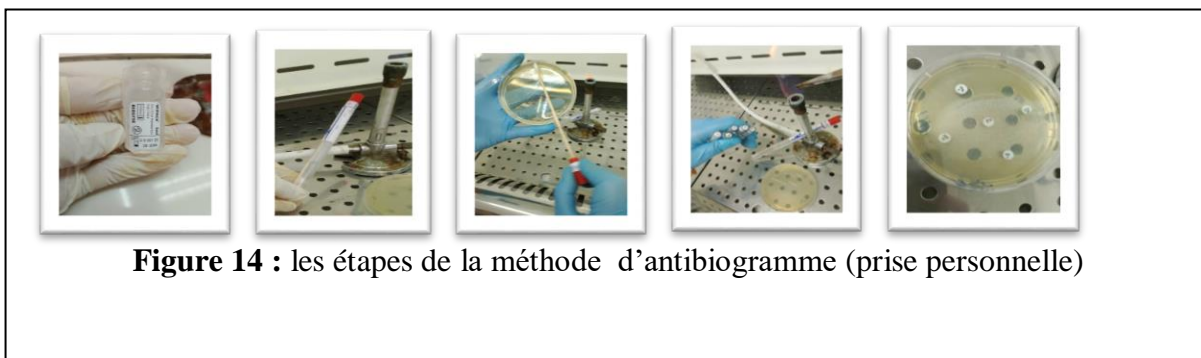


Figure 14 : les étapes de la méthode d'antibiogramme (prise personnelle)

Partie 02 :

1. Matériel Végétal :

1.1 Choix des plantes utilisées

L'utilisation de *Rosmarinus officinalis* (romarin), *Mentha longifolia* (menthe longue), et *Mentha pulegium* (menthe pouliot) a été faite en raison de leurs propriétés médicinales reconnues et de leur potentiel antibactérien significatif, qui est largement documenté dans la littérature scientifique.

Les plantes utilisées dans cette étude ont été achetées et extraites de chez un fournisseur local spécialisé en plantes médicinales et aromatiques à la date de 18 mars 2024, car l'extraction n'a pas pu être réalisée ni au laboratoire pédagogique du département de Technologie à l'Université de 20 Août 1955 de Skikda, ni au laboratoire de l'École Nationale de Azzaba en raison de la charge de travail élevée. Seule la partie aérienne (sommités fleuries) a été utilisée pour l'obtention des huiles essentielles.

1.2 Origine et choix des souches bactériennes :

Les souches bactériennes utilisées dans notre étude ont été ramenées de l'hôpital Saad Guermeche, où un stage a été effectué pour collecter et analyser et identifier ces échantillons.

2. Méthode d'évolution de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de (*Rosmarinus officinalis*, *Mentha longifolia*, *mentha pulegium*), a été mise en évidence en utilisant les deux méthodes de diffusion sur gélose (méthode de puits) et la méthode de dilution pour six souches bactériennes (*Klebsiella ornithimolytica*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, et *Streptococcus sp*) cela a été effectué au niveau du laboratoire d'analyses médicales (hôpital Saad Guermeche à Skikda)

1.1 Repiquage des souches microbiennes :

L'ensemble des souches microbiennes sont entre tenues par repiquage sur un milieu nutritif gélosé

favorable à leur croissance pendant 24 h à l'obscurité à 37 °C afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées pour l'étude de l'activité antimicrobienne .Le repiquage se réalise 24h avant chaque nouvelle série de tests

2.2 Méthode de dilution :

Pour chaque HE on Prépare 11 tubes en verre stériles: le 1^{er} contient de DMSO diluant, le 2^{eme} contient d'HE pure, et les autres tubes (tableau)

Tableau 04 : les dilutions des huiles essentielles avec DMSO

Numéro de tube	01	02	03	04	05	06	07	08	09
Les dilutions	10 µl d'HE Et 90 µl de DMSO	20 µl d'HE Et 80 µl de DMSO	30 µl d'HE Et 70 µl de DMSO	40 µl d'HE Et 60 µl de DMSO	50 µl d'HE Et 50 µl de DMSO	60 µl d'HE Et 40 µl de DMSO	70 µl d'HE Et 30 µl de DMSO	80 µl d'HE Et 20 µl de DMSO	90 µl d'HE Et 10 µl de DMSO

2.4 Préparation de l'inoculum :

A partir de nos boîtes contenant Souches pathogènes on a préparé des suspensions dans des écouvillons stériles pour chaque espèce. A l'aide d'une pipette pasteur on prélève une colonie pure et bien isolées on la décharge dans un tube contenant 5 ml de l'eau distillé stérile. L'enrichissement dure pendant 1 heure

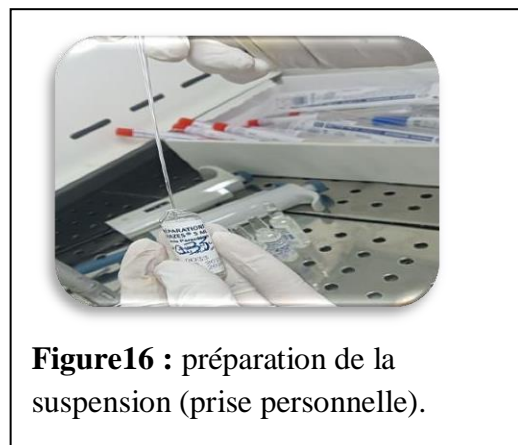


Figure16 : préparation de la suspension (prise personnelle).

2.5 Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits) :

la méthode des puits, également connue sous le nom de méthode de diffusion en puits, est une technique utilisée en microbiologie pour évaluer l'activité antibactérienne ou antifongique de substances telles que les extraits de plantes, les huiles essentielles ou les antibiotiques.

Les étapes principales de la méthode des puits se résument comme suit

- **Préparation de la gélose** : Une gélose nutritive ou un autre milieu de culture approprié est préparé et versé dans des boîtes de Pétri pour former une couche uniforme sur la surface.
- **Séchage de la surface** : Une fois que la gélose a solidifié, sa surface est laissée à sécher pour évaporer tout excès d'humidité.

- **Ensemencement de l'inoculum:** Sur un milieu de culture (Muller Hinton) on dépose quelques gouttes de la suspension bactérienne (inoculum), effectué à l'aide d'un écouvillon des Stries dans un mouvement de va-et-vient sur la surface. Refaire la même technique pour le reste des boîtes.
- **Découpe des puits :** À l'aide d'un poinçon stérilisé, des puits sont découpés dans la gélose séchée. Les puits doivent avoir des dimensions uniformes pour assurer des résultats précis.

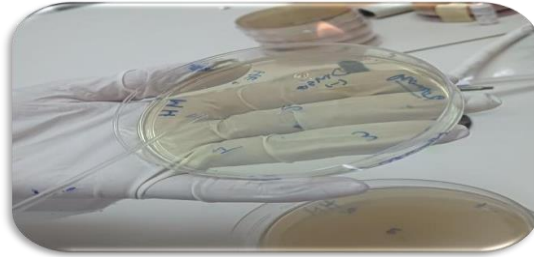


Figure 18: méthode de puits (prise personnelle).

- **Application des substances testées :** Dans chaque puits, une petite quantité de la substance testée est déposée. Il s'agit des dilutions des huiles essentielles avec DMSO.

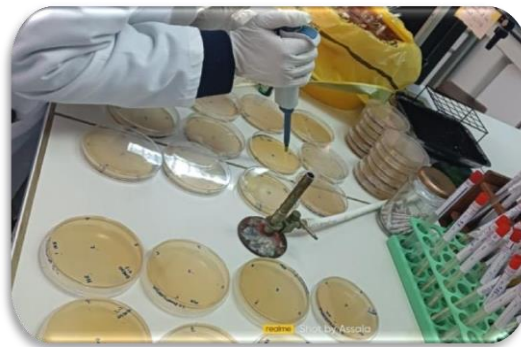
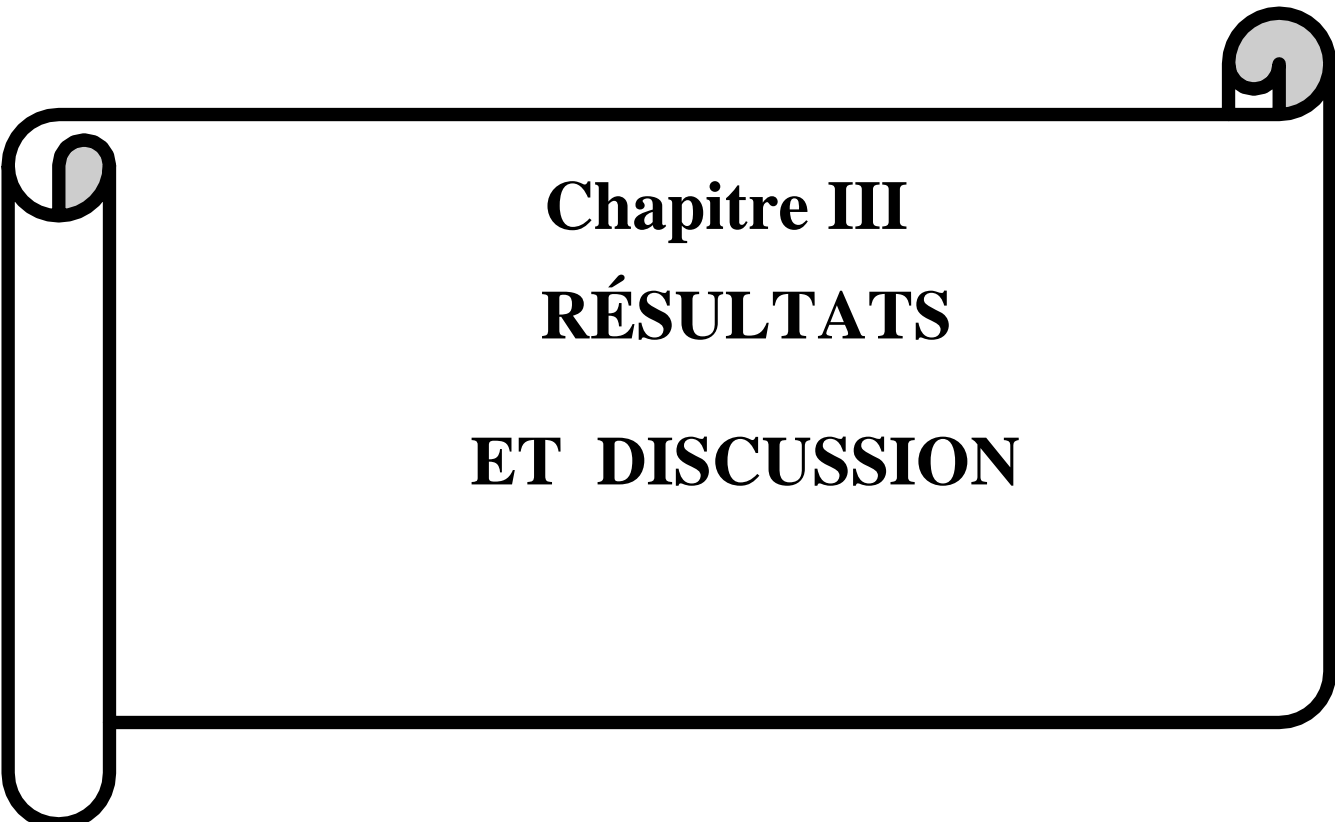


Figure 19: Application les dilutions sur les puits (prise personnelle).

- **Incubation :** Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à une température 37 pendant 42h, permettant aux substances testées d'entrer en contact avec les micro-organismes présents dans la gélose.
- **Observation des zones d'inhibition :** Après l'incubation, les boîtes de Pétri sont examinées pour détecter la présence de zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour de chaque puits. Ces zones indiquent l'activité antibactérienne de la substance testée.



Chapitre III
RÉSULTATS
ET DISCUSSION

Partie01

1 Identification des souches:

➤ **L'aspect des colonies :**

L'observation macroscopique des colonies, obtenues sur plusieurs milieux de cultures, a révélé des colonies avec des différentes formes et couleurs (figure), (Tableau).

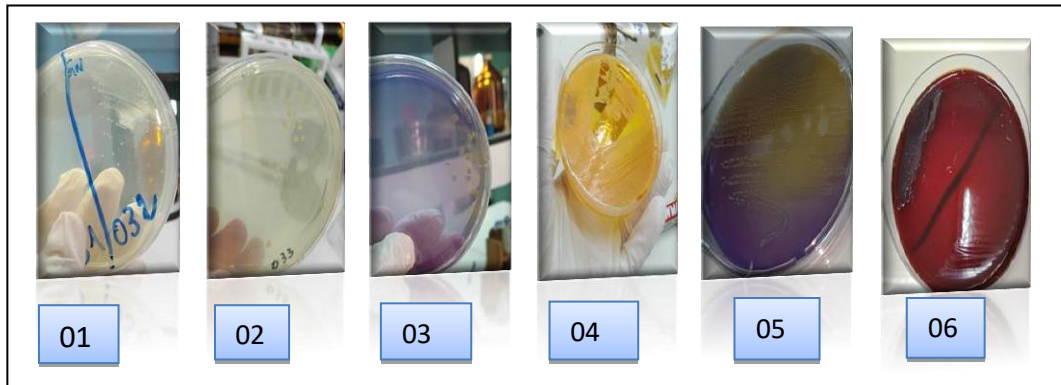


Figure20:Enrichissement des souches pathogènes sur plusieurs milieux de cultures (pris personnelle)

Tableau05 :L'aspect des colonies des souches isolées.

Les souches microbiennes	Observation macroscopique
1. <i>Streptococcus spp</i>	Punctiforme, no pigmenté, Platte en amas, opaque.
2. <i>Enterobacter Cloacae</i>	Colonies rondes, plates, irréguliers
3. <i>Escherichia coli</i>	jaune, brillante, plate, lisse
4. <i>Staphylococcus aureus</i>	Punctiforme, mycoide, Platte, beige, opaque.
5. <i>Klebsiella ornithinolytica</i>	jaune, brillante, bombé, lisse
6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	vert anis, lisse, plate

➤ **L'aspect des cellules:**

L'étude microscopique basée sur un état frais et coloration de Gram(**Tableau06**) ;

Tableau 06: L'aspect des cellules après une étude microscopique à l'état frais et après coloration de Gram.

Espèces	Etat frais	Coloration de Gram
<i>Streptococcus spp</i>	Pyritriche, Cocci, isolée	Gram ⁺
<i>Enterobacter Cloacae</i>	Bacilles droits, mobiles,	Gram ⁻
<i>Escherichia coli</i>	Bacilles, mobile, taill variable	Gram ⁻
<i>Staphylococcus aureus</i>	Immobilé, Cocci, isolée,	Gram ⁺
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	Coccobacilles	Gram ⁻
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacilles, très mobiles,	Gram ⁻

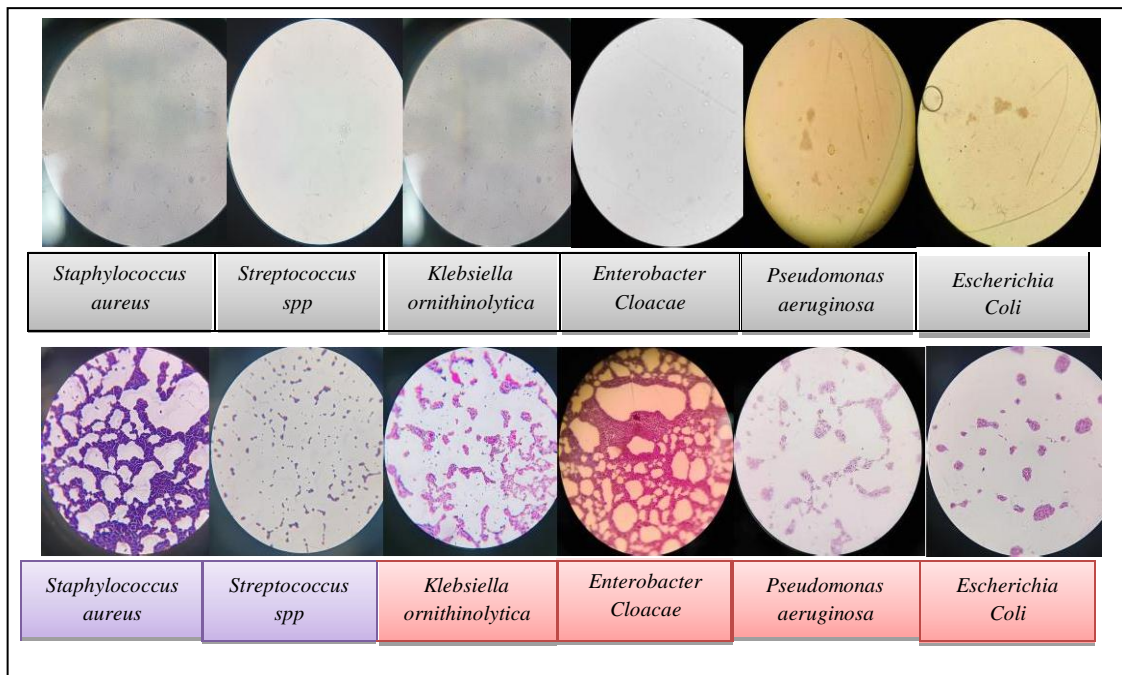


Figure 21 : Observation microscopique des souches pathogènes état frais et après coloration de Gram (Prise personnelle)

2 Caractérisation biochimique :

- **Teste de Catalase :** L'action directe du catalase est mise en évidence par un dégagement gazeux immédiat résultant de la décomposition de l'eau oxygénée, les résultats obtenus montrent que nos souches sont révélées (figure 22) :

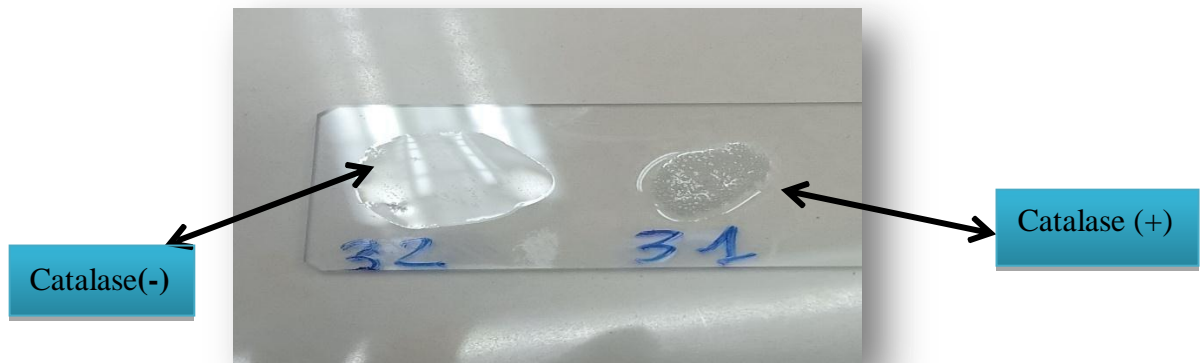


Figure 22 : Résultats de test de catalase (prise personnelle)

Après le test de catalase, on a trouvé une seule souche bactérienne de staphylocoque et un streptocoque

Catalase (-) : Streptocoque

Catalase (+) : Staphylocoque

Les staphylocoques possèdent une enzyme qui catalyse la dégradation d' H_2O_2 en H_2O et dioxygène visible par la formation des bulles d'air.

- **Teste de Coagulase :**

Dans notre étude du test de coagulase on a trouvé une seule souche de *Staphylococcus aureus*.

- Coagulase (+) : *Staphylococcus aureus*.

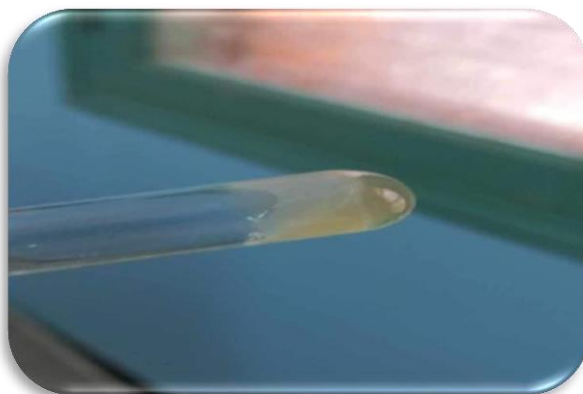


Figure 23: Résultat du test coagulase (prise personnelle)

-Si le plasma est coagulé donc le fibrinogène a été transformé en fibrine, cela permet de confirmer que le germe est un *Staphylococcus aureus*.

- Galerie biochimique

Des galeries biochimiques ou des automates d'identification (testes d'acidification ou d'assimilation des sucres et des tests enzymatiques)(figures 24,25,26,27)

Galerie 01 :

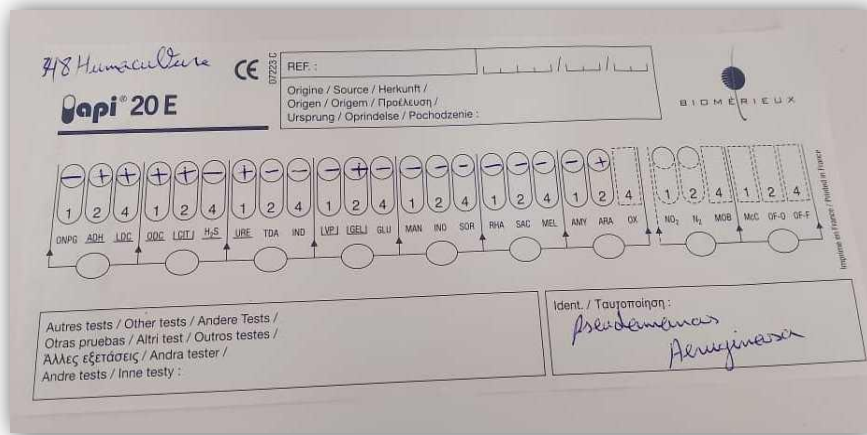


Figure24 : Resultats obtenus de l'identification biochimique par galerie biochimique API20E (*Pseudomonas aeruginosa*) (prise personnelle)

Galerie 02:



Figure25 : Resultats obtenus de l'identification biochimique par galerie biochimique API20E (*Escherichia coli*)(prise personnelle)

Galerie 03:



Figure 26: Résultats obtenus de l'identification biochimique par galerie biochimique API20E (*Klebsiella ornithinolytica*)(prise personnelle)

Galerie 04 :



Figure 27 : Résultats obtenus de l'identification biochimique par galerie biochimique API20E (*Enterobacter Cloacae*) (prise personnelle)

3 Résultats des antibiogrammes :

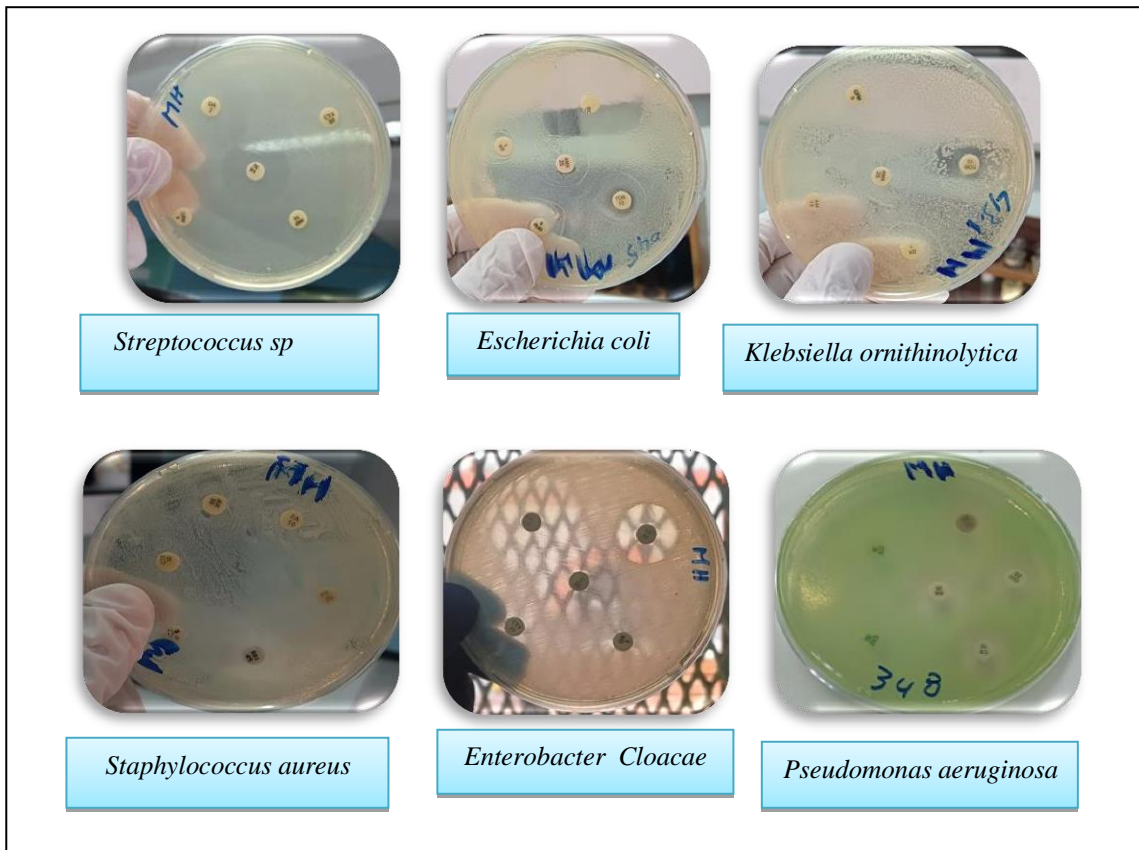


Figure28: Résultat des antibiogrammes (prise personnelle)

a. Profil de Résistance et Sensibilité des Souches Bactériennes

Les souches bactériennes étudiées ont montré divers profils de résistance et de sensibilité aux antibiotiques.

Voici un résumé des caractéristiques de chaque souche :

1. *Streptococcus sp.*

- **Résistante à :** Clindamycine, Imipénem, Céfotaxime, Céfixime
- **Sensible à :** Vancomycine

2. *Enterobacter cloacae*

- **Résistante à :** Céfotaxime, Oxacilline
- **Sensible à :** Chloramphénicol, Acide fusidique, Vancomycine

3. *Escherichia coli*

- **Résistante à :** Oxacilline, Tobramycine, Amoxicilline, Céfixime
- **Sensible à :** Chloramphénicol

4. *Staphylococcus aureus*

- **Résistante à :** Amikacine, Céfotaxime, Céfixime, Acide fusidique

- **Sensible à** : Spiramycine, Acide pipémidique

5. *Klebsiella ornithinolytica*

- **Résistante à** : Oxacilline, Amoxicilline, Ampicilline, Céfixime
- **Sensible à** : Tobramycine

6. *Pseudomonas aeruginosa*

- **Résistante à** : Céfotaxime, Céftazidime, Ampicilline
- **Sensible à** : Co-trimoxazole, Amikacine, Colistine sulfate

Tableau récapitulatif des résistances et sensibilités

Bactérie	Antibiotiques Résistants	Antibiotiques Sensibles
<i>Streptococcus sp.</i>	Clindamycine, Imipénem, Céfotaxime, Céfixime	Vancomycine
<i>Enterobacter cloacae</i>	Céfotaxime, Oxacilline	Chloramphénicol, Acide fusidique, Vancomycine
<i>Escherichia coli</i>	Oxacilline, Tobramycine, Amoxicilline, Céfixime	Chloramphénicol
<i>Staphylococcus aureus</i>	Amikacine, Céfotaxime, Céfixime, Acide fusidique	Spiramycine, Acide pipémidique
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	Oxacilline, Amoxicilline, Ampicilline, Céfixime	Tobramycine
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Céfotaxime, Céftazidime, Ampicilline	Co-trimoxazole, Amikacine, Colistine sulfate

Observations et Conclusions

- *Streptococcus sp.* montre une résistance notable à plusieurs antibiotiques courants, mais reste sensible à la vancomycine, ce qui pourrait être exploité en thérapie.
- *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* partagent une résistance à certains antibiotiques, mais leur sensibilité au chloramphénicol offre une option de traitement.
- *Staphylococcus aureus* présente une résistance multiple, bien que la spiramycine et l'acide pipémidique soient efficaces contre cette souche.
- *Klebsiella ornithinolytica* est résistant à de nombreux antibiotiques bêta-lactamines, mais la tobramycine reste une option viable.
- *Pseudomonas aeruginosa* est résistant à plusieurs céphalosporines et à l'ampicilline, mais sensible à la co-trimoxazole, l'amikacine et le colistine sulfate, des choix importants dans le traitement des infections sévères causées par cette bactérie.




Ces résultats soulignent l'importance de tests de sensibilité aux antibiotiques pour orienter les décisions thérapeutiques et optimiser l'efficacité du traitement, surtout dans un contexte de résistance croissante aux antibiotiques.

Partie 02 : Étude Expérimentale

1. Caractères Organoleptiques des Huiles Essentielles Utilisées

Les paramètres organoleptiques des huiles essentielles, à savoir l'aspect, la couleur et l'odeur, sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Huile essentielle	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Limpide	Jaune pâle	Fraîche, herbacée, légèrement camphrée
			
<i>Mentha longifolia</i>	Limpide	Jaune pâle	Mentholée, fraîche, herbacée
			
<i>Mentha pulegium</i>	Limpide	Jaune verdâtre	Forte, mentholée, avec une note terreuse
			

Ces caractéristiques organoleptiques sont importantes pour identifier et différencier les huiles essentielles, ainsi que pour assurer leur qualité et pureté. Elles jouent également un rôle dans l'acceptabilité et la préférence des utilisateurs finaux, en plus de leurs propriétés thérapeutiques.

2 Résultats du test du pouvoir l'activité antibactérienne :

2.1 Résultats du Repiquage des souches bactériennes



E. Cloacae *K. ornithinolytica* *E. Coli* *P. aeruginosa* *s. aureus* *Streptococcus spp*

2.2 Résultats de l'aromatogramme:

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, *Mentha longifolia*, et *Mentha pulegium* a été évaluée sur six bactéries pathogènes : *Escherichia coli*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, et *Pseudomonas aeruginosa*. Après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C, cette activité a été mesurée par la méthode de l'aromatogramme. Le pouvoir antibactérien de ces huiles essentielles a été déterminé par la mesure du diamètre des zones d'inhibition en millimètres (mm).

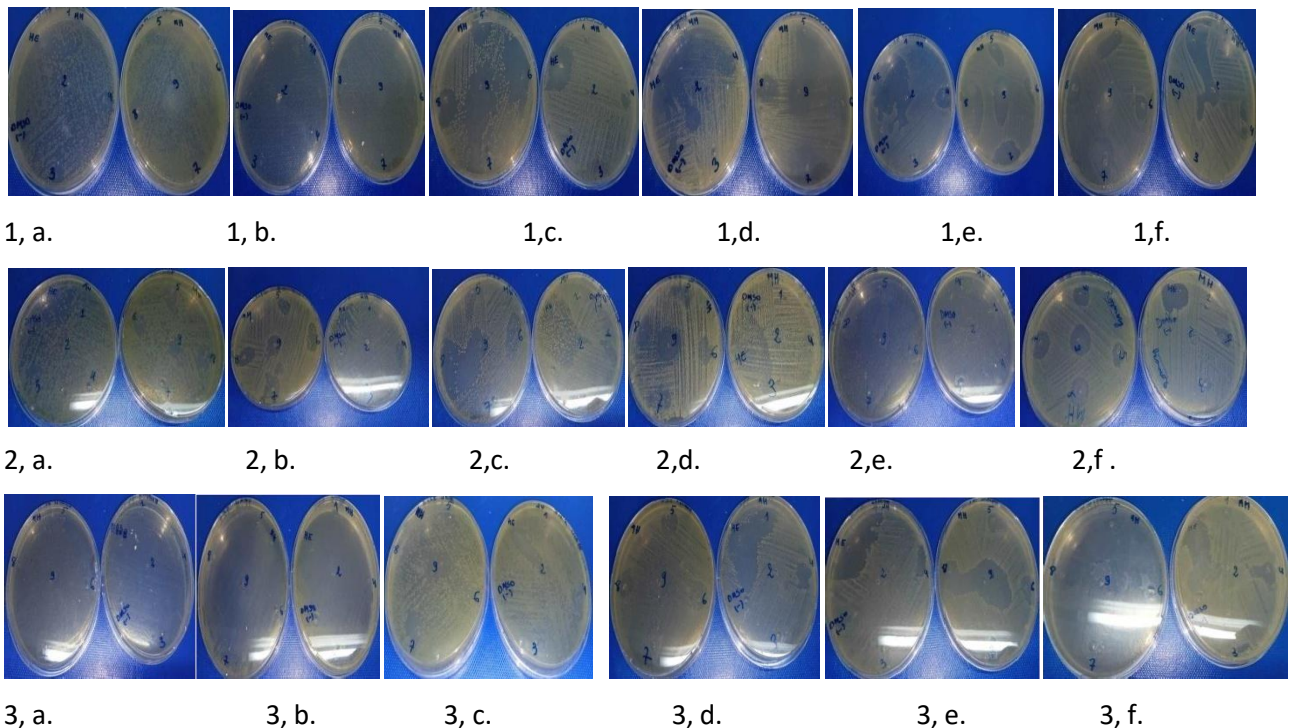


Figure29 :Les zones d'inhibition des huiles essentielles testées)1(*mentha pulegium*,)2(*Rosmarinus officinalis*,)3 (*Mentha longifolia* sur les souches bactériennes : (a) *P.aeruginosa*, (b) *E. coli*, (c) *K.ornithinolytica*,(d) *S.aureus*,(e) *Streptococcus sp*,(f) *E. cloacae*

Tableau 08 : Résultats de l'aromatogramme (diamètres des zones d'inhibition en mm de chaque dilution, DMSO, huile pure) HE de *Rosmarinus officinalis*

	DMSO (Témoin)	01	02	03	04	05	06	07	08	09	HE pure
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	03	05	05	06	06	07	08	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	05	-	03	04	07	07	10	24
<i>Streptococcus sp</i>	-	-	-	-	04	07	08	10	10	17	30
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	06	06	08	08	10	29
<i>Enterobacter Cloacae</i>	-	-	-	02	06	08	10	10	10	10	16
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	-	-	-	-	07	09	12	15	18	18	26

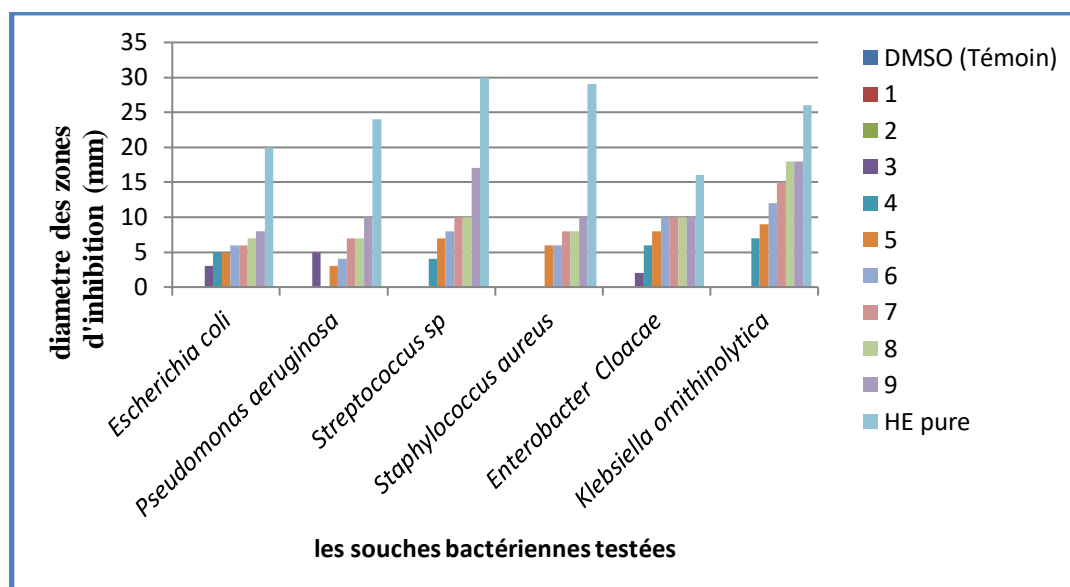


Figure 30 : Histogramme présentant les zones d'inhibition pour les souches bactériennes testées avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

À partir des résultats des diamètres des zones d'inhibition présentés dans le tableau (8) et la figure (30), nous constatons que l'extrait d'huile essentielle pure de *Rosmarinus officinalis* montre une activité antimicrobienne variée contre les souches suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Klebsiella ornithinolytica*.

Les zones d'inhibition créées par l'huile essentielle pure sont plus grandes que celles créées par les dilutions de l'huile essentielle et le DMSO.

Cela indique une concentration plus élevée de composés actifs dans l'huile essentielle pure, responsables de l'activité antimicrobienne accrue.

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* démontre une efficacité sur un large spectre de bactéries Gram-positives comparativement aux bactéries Gram-négatives.

Les bactéries Gram-positives sont plus sensibles à l'action des huiles essentielles, ce qui peut être attribué à la structure de leur paroi cellulaire. Les huiles essentielles peuvent interagir plus facilement avec la paroi cellulaire des bactéries Gram-positives, provoquant des lésions importantes.

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* montre une activité antimicrobienne plus significative contre les bactéries Gram-positives que contre les bactéries Gram-négatives.

Cette différence est due à la structure des membranes cellulaires des bactéries. Les bactéries Gram-négatives ont une membrane externe complexe et double, ce qui limite la pénétration des composés hydrophobes présents dans les huiles essentielles. En revanche, les bactéries Gram-positives ont une structure membranaire plus simple, ce qui les rend plus vulnérables à ces composés. [85]

Tableau09 : Résultats de l'aromatogramme (diamètres des zones d'inhibition en mm de chaque dilution, DMSO, huile pure) de *Mentha longifolia*

	DMSO (Témoin)	01	02	03	04	05	06	07	08	09	HE pure
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	02	03	05	05	06	11	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	04	05	05	08	09	10	20
<i>Streptococcus sp</i>	-	-	-	-	06	07	07	07	09	10	26
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	04	06	08	09	11	13	28
<i>Enterobacter Cloacae</i>	-	-	-	-	05	06	06	07	07	09	23
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	-	-	-	-	05	06	06	08	11	15	25

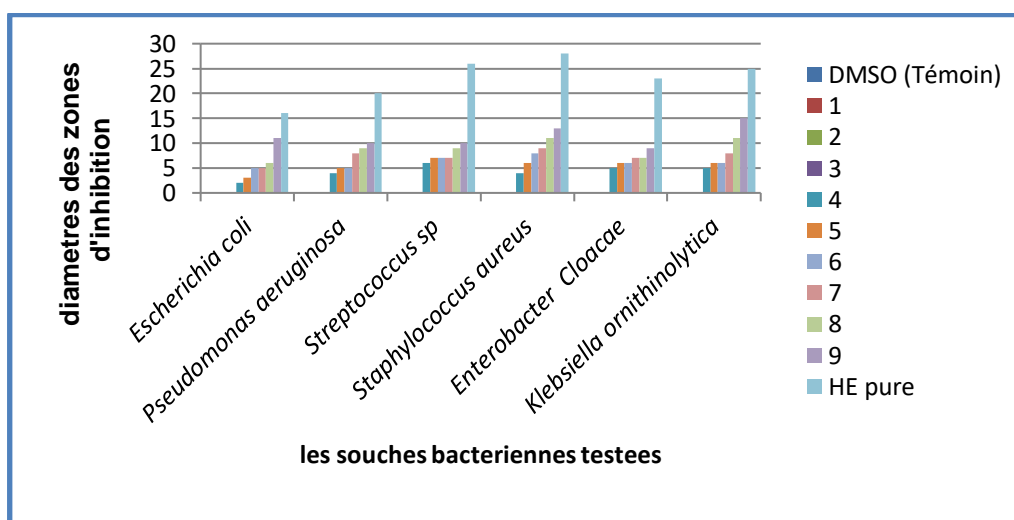


Figure31: histogramme présentant les zones d'inhibition pour les souches bactériennes testées avec l'huile essentielle de *Mentha longifolia*

A partir des résultats des diamètres des zones d'inhibitions dans le tableau (9) et Figure (31). L'extrait d'huile essentielle pure de *Mentha pulegium* possède une activité antibactérienne différente contre (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*, *Enterobacter Cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia Coli*, *Klebsiella ornithinolytica*)

On remarque le diamètre des zones d'inhibitions de l'huile essentielle (HE) pure est plus grande que les zones d'inhibitions de la dilution d'HE et DMSO. On remarque aussi l'action d'huile essentielle de *Mentha longifolia* s'exerce sur un large spectre des bactéries à Gram positive que les bactéries à Gram négative.

Par comparaison entre les résultats, il en ressort que les bactéries Gram Positifs sont plus sensibles à l'action de l'huile essentielle de la menthe verte que les bactéries Gram négatif, même si la sensibilité de ces dernières n'est pas négligeable. Ceci pourrait être lié à la structure de la paroi cellulaire [86]. En effet, les souches Gram négatif possèdent une paroi constituée d'une membrane externe hydrophile qui empêche la pénétration intracellulaire des molécules hydrophobes composant la majorité des huiles essentielles [87]. Cette caractéristique confère aux bactéries Gram négatives une résistance ou bien une sensibilité moins importante à la majorité des HE par rapport aux bactéries Gram positifs.

Tableau10 : Résultats de l'aromatogramme (diamètres des zones d'inhibition en mm de chaque dilution, DMSO, huile pure) de *mentha pulegium*

	DMSO (Témoin)	01	02	03	04	05	06	07	08	09	HE Pure
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	05	07	07	10	12	12	23
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	04	05	-	05	04	07	09	10
<i>Streptococcus sp</i>	-	-	-	-	02	02	05	06	08	10	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	05	07	08	10	10	10	26
<i>Enterobacter Cloacae</i>	-	-	-	-	04	06	06	10	10	11	22
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	-	-	-	-	03	07	08	10	10	15	20

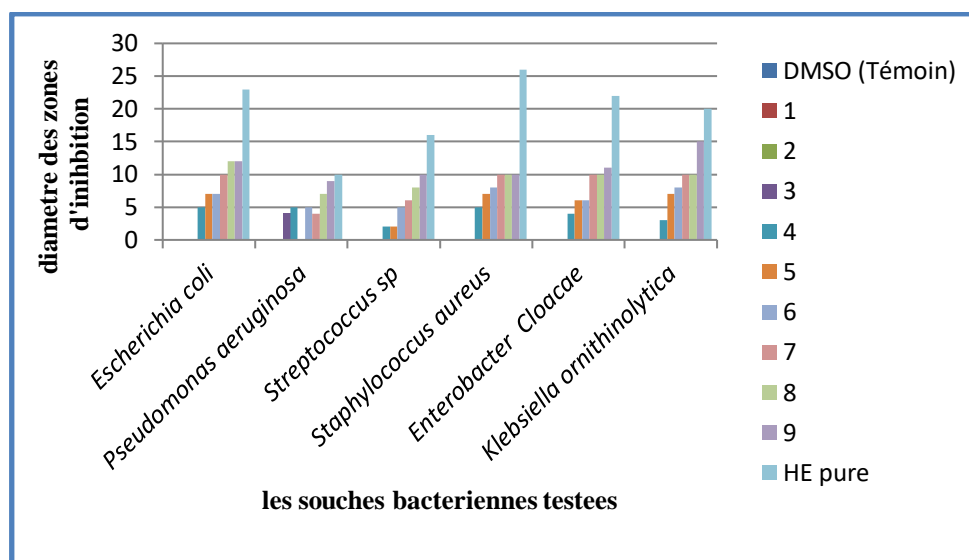


Figure 32: histogramme présentant les zones d'inhibition pour les souches bactériennes testées avec l'huile essentielle de (*Mentha pulegium*)

À partir des résultats présentés dans le tableau (10) et la figure (32), nous observons que l'extrait d'huile essentielle pure de *Mentha pulegium* montre une activité antibactérienne variée contre les souches suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Klebsiella ornithinolytica*.

Les zones d'inhibition créées par l'huile essentielle pure sont plus grandes que celles créées par les dilutions de l'huile essentielle et le DMSO.

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* montre une efficacité sur un large spectre de bactéries Gram positives par rapport aux bactéries Gram négatives.

Les bactéries Gram positives sont plus sensibles à l'action des huiles essentielles en raison de la structure de leur paroi cellulaire. Les huiles essentielles peuvent interagir plus facilement avec la paroi cellulaire des bactéries Gram positives, provoquant des lésions importantes.

La résistance accrue des bactéries Gram-négatives est liée à la structure de leur membrane externe, qui agit comme une barrière hydrophile, limitant la diffusion des huiles essentielles à travers celle-ci [88]. Nos résultats rejoignent les travaux de plusieurs recherches qui stipulent que les bactéries à gram positifs sont plus sensibles que les bactéries à gram négatifs [89] [90] [91] (Amara et Boughérara, 2017 ; Ahmadi-Dastgerdi et al., 2017 ; Zhangetal.,2016).

2.3 Comparaison des Trois Huiles Essentielles entre elles

pour comparer les trois huiles essentielles : *Mentha pulegium* (menthe pouliot), *Mentha longifolia* (menthe longue) et *Rosmarinus officinalis* (romarin), voici un tableau résumant leurs caractéristiques principales basées sur leurs propriétés et applications potentielles :

Caractéristique	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Mentha longifolia</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Origine botanique	Menthe pouliot, originaire d'Europe et d'Asie occidentale	Menthe longue, originaire du bassin méditerranéen	Romarin, originaire du bassin méditerranéen
Composition chimique	Riches en composés terpéniques et non terpéniques	Riche en menthol, menthone, et autres composés terpéniques	Riche en cinéole, camphre, et autres composés terpéniques
Propriétés antimicrobiennes	Activité contre diverses souches bactériennes, efficacité variable selon les études	Activité bactéricide et bactériostatique, notamment contre <i>S.aureus</i> , <i>Streptococcus sp</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , et <i>K.ornithinolytica</i> .	Forte activité antimicrobienne, efficace contre plusieurs bactéries pathogènes
Applications traditionnelles	Utilisation en médecine traditionnelle pour ses propriétés antispasmodiques et antiseptiques	Utilisation pour ses propriétés digestives, antiseptiques et rafraîchissantes	Utilisation variée en aromathérapie pour ses propriétés stimulantes, antiseptiques et analgésiques
Potentiel thérapeutique	Utilisé pour soulager les maux d'estomac, les troubles digestifs et les infections mineures	Utilisé pour les troubles respiratoires, les maux de tête et les douleurs musculaires	Utilisé pour améliorer la circulation, stimuler la mémoire et soulager le stress
Toxicité potentielle	Peut être toxique à fortes doses en raison de la présence de composés potentiellement nocifs	Généralement sûr à utiliser à des doses appropriées, mais doit être dilué correctement	Peu de risques connus lorsqu'il est utilisé conformément aux recommandations

Comparaison générale :

- **Efficacité antimicrobienne** : *Rosmarinus officinalis* montre la plus forte activité antimicrobienne parmi les trois huiles essentielles, suivie par *Mentha longifolia* et *Mentha pulegium*.
- **Composition chimique** : Chaque huile essentielle a une composition chimique distincte qui influence ses propriétés et ses applications.
- **Applications traditionnelles** : Chaque plante a des utilisations traditionnelles spécifiques qui reflètent ses propriétés pharmacologiques et thérapeutiques.

En résumé, bien que toutes les huiles essentielles présentent des activités antimicrobiennes et des applications thérapeutiques potentielles, *Rosmarinus officinalis* semble se démarquer principalement en raison de son large spectre d'activité antimicrobienne et de ses multiples applications bénéfiques pour la santé.



**Conclusion et
Perspectives**

Conclusion et Perspectives

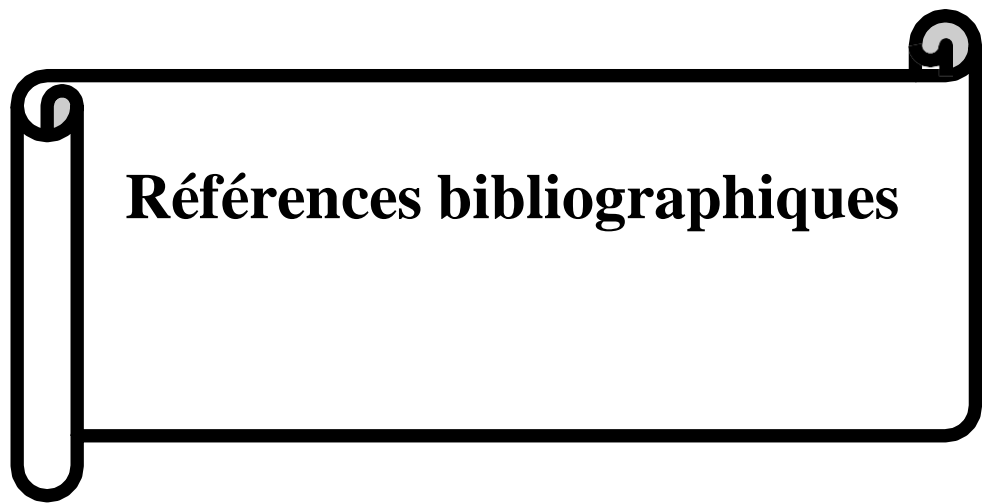
Les huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales, telles que *Rosmarinus officinalis*, *Mentha longifolia*, et *Mentha pulegium*, démontrent un potentiel antibactérien significatif contre une variété de souches bactériennes pathogènes. Leur utilisation pourrait offrir une alternative prometteuse aux antibiotiques synthétiques, surtout face à la montée préoccupante des résistances bactériennes.

Les études montrent que l'efficacité des huiles essentielles varie selon les types de bactéries, avec les bactéries à Gram positif étant généralement plus sensibles en raison de leur structure de paroi cellulaire. L'activité antibactérienne des huiles essentielles est principalement attribuée aux composés phénoliques et terpéniques qu'elles contiennent.

Cette recherche souligne l'importance des plantes médicinales et des huiles essentielles dans la quête de nouveaux agents thérapeutiques. Bien que les résultats obtenus soient encourageants, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier les composés actifs spécifiques, déterminer leurs mécanismes d'action, et évaluer leur efficacité et sécurité en conditions cliniques.

Ainsi, les huiles essentielles représentent une piste sérieuse et naturelle pour le développement de nouveaux traitements antibactériens, pouvant compléter ou remplacer les antibiotiques conventionnels. Ces découvertes ouvrent des perspectives intéressantes pour la médecine alternative et renforcent la nécessité d'une exploration continue des ressources naturelles pour des solutions de santé innovantes et durables.

La recherche future devra se concentrer sur la standardisation, l'efficacité clinique, et la compréhension approfondie de leurs interactions biologiques pour maximiser leur potentiel thérapeutique.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références:

[1]: Bettenfeld Glazunova, O.(2009).Identification moléculaire et étude phylogénétique des bactéries appartenant au genre Streptococcus (Doctoral dissertation, Aix _Marseille 2).

[2]: GARNIER F., DENIS F ., (2011). Bactériologie médicale : cocci à Gram positif. Paris : Elsevier Masson :299_319.

[3] : A Al-obaidy, Ghaith A. 2023. “In Vitro Pathogenicity of Pseudomonas Savastanoi Isolated from Olive Trees in Iraq on Fruits of Various Plant Species and Their Molecular Characterisation.” American Journal of Biomedical Science & Research 19 (1) Réécrivez correctement les références elles ne sont pas écrites correctement

[4] : F.Garnier, F.Denis. 2011. Cocci à Gram positif. Bactériologie médicale, N°32, P : 287-330.

[5] : Billon l'aura. (2014). Étude épidémiologique des infections invasives et non invasives à Streptococcus pyogènes au CHU de Toulouse (2009_2013) : relation entre facteurs de virulence des souches, présentement chimique et issue des cas .Sciences pharmaceutique, 95 : 164.

[6]: Ben Touati Hanen , Maouche Fatma Zahra .(2021). Étude Séro_épidémiologique des angines d'origine Streptocoque (test ASLO).Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B .B.A .

[7] : Coulibaly CA. Arthrite septique à Streptococcus pneumoniae chez l'Adulte : A Propos d'un cas 2014.

[8]: Mme Houssenaton Maiga. (2019). Sensibilité aux antibiotiques usuels des souches Dr Streptococcus pneumoniae isolées dans les expectorations au laboratoire de bactériologie de LINRSP à Bamako. Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako.

[9]: Perez-Trallero E., Vicente D., Montes M. (2001). High proportion of Pharyngeal carriers of commensal streptococci resistant to erythromycin in Spanish Adults. Antimicrobial Chemother, 48 (2) : 225-9.

[10] : Robert, D., 2013. Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Angers, Département Pharmacie 16, Boulevard Daviers - 49045 ANGERS Cedex. p 21 23. 115P

[11] : Delarras, C., Trébaol, B., Durand, J., 2010. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation-Micro-organismes-Prélèvements-Analyse. 2ème édition. Éditions Tec et Doc. Lavoisier. p 542

[12] : El-Anzi, O., 2014. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylococcus Aureus isolées au Centre Hospitalier Ibn Sina de Rabat (Doctoral dissertation). Université MOHAMMED V- SOUSSI. p 4, 9. 85P.

Références bibliographiques

- [13] : LE LOIR Y ET GAUTIER M. 2010. *Staphylococcus aureus*. Edition TEC et DOC, Lavoisier. p1-3.
- [14] : LE MINOR L et VERON M. 1990. Bactériologie Médicale «Staphylococcus et Micrococcus» J.Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773- 794.
- [15] : GUIRAUD JP et ROSEC JP. 2004. Pratiques des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR 2004. ISBN 2-12-445211-8.
- [16] : ROBERT D. 2013. « Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive ». Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université d'ANGERS des Sciences Pharmaceutiques et d'Ingénierie de la Santé, France.
- [17] : Djebbar, L., & Megrous, S. (2019). Portage de *S. aureus* chez le bovin laitier et le caprin. Caractérisation phénotypique des isolats (Région de Tizi-Ouzou et de Bouira) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [18] : EFSA. (2020). Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans les échantillons de lauréat de la campagne de surveillance des résistances aux antibiotiques (SARMS) en Mauritanie.
- [19] : Gouvernement du Québec. (s.d.). *Staphylococcus aureus* : le SARM (*S. aureus*).
- [20] : Fauchere J. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses, p: 200-202.
- [21] : Sakazaki, R., Tamura, K., Kosako, Y., & Yoshizaki, E. (1989). *Klebsiella ornithinolytica* sp. nov., formerly known as ornithine-positive *Klebsiella oxytoca*. *Current Microbiology*, 18, 201-206.
- [22]: Bagley, Susan T. "Habitat association of *Klebsiella* species." *Infection Control & Hospital Epidemiology* 6.2 (1985): 52-58.
- [23] : Bouakaz, Wissam, Rym Boukadoum, and N. Encadreur Adjeroud. Evaluation des méthodes de détection des *Klebsiella* responsables d'infections nosocomiales. Diss. université de jijel, 2010.
- [24] : *Klebsiella*, *Morganella*, *Shigella* *Serratia* et *Ewingella* *Cedecea*. "Chapitre 30. Bacilles à Gram négatif aérobies et aéro-anaérobies 303." *Bactériologie médicale : Techniques usuelles* (2016) : 302
- [25] : Seng, P., Boushab, BM, Romain, F., Gouriet, F., Bruder, N., Martin, C., ... & Stein, A. (2016). Rôle émergent de *Raoultella ornithinolytica* dans les infections humaines : une série de cas et revue
- [26] : Lister,P.D., Wolter,D.J., Hanson,N.D., 2009. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev* 22: 582-610.

Références bibliographiques

- [27] Delarras, C., Trébaol, B., Durand, J., 2010. Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation-Micro-organismes-Prélèvements-Analyse. 2^{ème} édition. Éditions Tec et Doc. Lavoisier. p 542
- [28] : Amazian, K., Rossello, J., Castella, A., Sekkat, S., Terzaki, S., Dhidah, L., ...&Fabry, J., 2010. Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region. *East MediterrHealth J.* 16: 1070-1078
- [29] Minchella, A., Molinari, L., Alonso, S., Bouziges, N., Sotto, A., et Lavigne, J.P., 2010. Evolution of antimicrobial resistance against *Pseudomonas aeruginosa* in a French university hospital between 2002 and 2006. *Pathol Biol (Paris)* 58: 1-6.
- [30] : C. Lilet ; J Bourdon ; B Toma ; N Marchal et C. Balbastre (1983) ; Bactériologie médicale et vétérinaire- systématique bactérienne ; Edition DOIN. PP 150-190.
- [31] : Hanane, B. O. U. A. M. E. R., & Malika, G. U. E. R. B. A. T. I. Fréquence de l'otite moyenne causée par *Pseudomonas aeruginosa* dans la région d'Ouargla (Isolement, identification, antibiogramme) (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA).
- [32] : Mesaros, N., Nordmann, P., Plésiat, P., Roussel-Delvallez, M., Van Eldere, J., Glupczynski, Y., ... & Tulkens, P. M., 2007. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Clinical microbiology and infection* 13: 560-578.
- [33] : REMY.D, (2010). Les mammites. Guides France agricole. 259pp.
- [34] : TENAILLON.O, SKURNIK.D, PICARD.B et DENAMUR.E, (2010): The population genetics of commensal *Escherichia coli*, 8: 207-217.
- [35] : RATTEZ.C, (2017). Les mammites subcliniques en élevage laitier: Antibiothérapie et Alternative (Thèse).
- [36] : Mouloud, M. A., & Dina, M. A. Mémoire.
- [37] : BENSAKHRIA.A (2018). Entérobactériaceae.
- [38] : Vican, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. Edition LAROUSSE. Paris. P, 355.
- [39] : SAVADOGO, M., BOUBKEIR, Y. (2016). Isolement et Etude de quelques Entérobactéries pathogènes dans les eaux usées d'Oued Boumerzoug à Constantine. Mémoire pour l'obtention d'un master : Microbiologie générale et biologie moléculaire. Université des frères Mentouri de Constantine, 51p
- [40] : FRENEY J, RENAUD P, LECLERCQ R et RIEGL P. (2007). Précis de bactériologie clinique. 2^{ème} Ed ESKA. p153 et 1012 1013.

Références bibliographiques

- [41] : Amina, B. O. U. K. H. E. M. I. S., & Amina, B. O. U. T. E. R. S. A. (2015). Identification et antibiorésistance de souches d'Escherichia coli et de Klebsiella pneumoniae des infections urinaires à l'aide des moyens classiques et des moyens automatisés. Constantine: sn.
- [42] Haouzi R. (2013). Etude biologique des effets des microondes sur Escherichia coli. Mémoire. Université des sciences et de la technologie d'Oron Mohamed Boudiaf. 60 P.
- [43] P. M. e. A. Denis F, Bacteriologie médicale techniques usuelles 2ème édition, Paris: Masson, 2007.
- [44] SAIDANI MARYLINE. (2012-2013). Thèse en ligne : Epidémiologie des pyélonéphrites et prostatites communautaires : Les traitements probabilistes recommandés sont-ils toujours adaptés ? Université Paris Diderot - Paris 7 faculté de médecine. France.
- [45] : Dong, Xu et coll. "Classification des espèces basée sur le séquençage du génome entier, typage de séquences multilocus et analyse du mécanisme de résistance aux antimicrobiens du complexe Enterobacter cloacae dans le sud de la Chine." Spectre de microbiologie 10.6 (2022) : e02160-22.
- [46] : Hormaeche, E., & Edwards, P. R. (1960). A proposed genus Enterobacter. International bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy, 10(2), 71-4.
- [47] : Liu, Wing-Yee et coll. "Analyse comparative du génome d'Enterobacter cloacae." PLoS One 8.9 (2013) : e74487
- [48] : Davin-Régli, Anne et Jean-Marie Pagès. "Enterobacter aerogenes et Enterobacter cloacae ; agents pathogènes bactériens polyvalents confrontés au traitement antibiotique." Frontières en microbiologie 6 (2015) : 392 .
- [49] : Compaore, Hamidou, et al. "Isolement et caractérisation morphologique de moisissures productrices de substances antibactériennes à partir d'aliments locaux au Burkina Faso." International Journal of Biological and Chemical Sciences 10.1 (2016): 198-210.
- [50] : Paré J. (1997). Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles, 4, 4.
- [51] : Agnihotri V.K., Agarwal S.G., Dhar P.L.,Thappa Baleshwar R.K., Kapahi B.K., Saxena R.K. &Qazi G.N., 2005 : Essential oil composition of Mentha pulegium L. growing wild in the north-western Himalayas India. Flavour Frag. J. 20: 607–610. Diaz-Maroto M.C., Castillo N., Castro-Vazquez L., Gonzalez-Vinas M.A. &PerezCoello M.S., 2007. Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (Mentha pulegium L.) plants.FlavourFrag. J. 22: 114-118.
- [52] : Anonyme, 2010 :<http://plantgenera.org/>

Références bibliographiques

- [53] : Amtaghri, S., Slaoui, M., & Eddouks, M. (2024). Mentha pulegium: A Plant with Several Medicinal Properties. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 24(3), 302-320.
- [54] Domingues, P. M., & Santos, L. (2019). Essential oil of pennyroyal (Mentha pulegium): Composition and applications as alternatives to pesticides—New tendencies. *Industrial Crops and Products*, 139, 111534.
- [55] Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Maxia, A., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., & Salgueiro, L. (2021). Antifungal activity of essential oil from Mentha spicata L. and Mentha pulegium L. growing wild in Sardinia island (Italy). *Natural product research*, 35(6), 993-999.
- [56] : Chalchat J.C., Gorunovlc M.S., Maksimovlc Z.A. & Petrovlc S.D., 2000 : Essential oil of wild growing Mentha pulegium L. from Yugoslavia. *J. Essent. Oil Res.* 12:p 598–600.
- [57] : Quézel P. & Santa S., 1963 : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 2. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.
- [58] : Guignard J. L., Dupont F., 2004 : Botanique: Systématique moléculaire. 13^{ème} éd. Masson, pp237.
- [59] : Demars, V. (2024). Menthe poivrée. *Hegel*, (1), 33-35.
- [60] : Amiri-Diététicienne, S. Tout savoir sur la menthe et ses atouts pour la santé.
- [61] : Okut, N., Yagmur, M., Selcuk, N., & Yildirim, B. (2017). Chemical composition of essential oil of Mentha longifolia L. subsp. longifolia growing wild.
- [62] : Pooley, E. 2003. Mountain flowers. The Flora Publications Trust, Durban.
- [63] Bai, X., Aimila, A., Aidarhan, N., Duan, X., & Maiwulanjiang, M. (2020). Chemical constituents and biological activities of essential oil from Mentha longifolia: Effects of different extraction methods. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 1951-1960.
- [64] : Plus, Mme Gayatri et M. ShravanSomani. "Une revue sur les cosmétiques de soins capillaires et les plantes médicinales indiennes pour les cheveux."
2563.
- [65] : Eloutassi N, Louasté B, Boudine L et Remmal A, 2013. Contribution au développement des régions rurales : Conservation de Rosmarinus officinalis. *Science Lib. Ed Mersenne* : Vol 5, n° 130409. P 2.
- [66] : Iserin P, Masson M, et Restellini J-P, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins. Ed Larousse.

Références bibliographiques

- [67] : LAOUICINourelhouda .,(2020). Activité antibactérienne et composition chimique de huile essentielle et de l'extrait brut de l'espèce *Rosmarinus officinalis*. Université Mohammed-SeddikBenyahia .Jijel.
- [68] : T. BOUKHALAFA.Thèse magistère, apport du couplage CPG/SM et CPG/TR. TF dans l'analyse des mélanges naturels complexes exemple de l'huile essentielle de romarin, USTBH, Alger, (1991).
- [69] :Mlle.C.BOUTEKEDJ IRET ., Mme W.KHALFI .,(2003).Extraction des huiles essentielles du Romarin et de Thym . Comportement insecticide de ces deux huiles sur *RhyzoperthaDominicia* .École Nationale Polytechnique. Département de Génie Chimique.
- [70] :Hoefler C, 1994. Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinusofficinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de doctorat en pharmacognosie.Univ de METZ.P 9-18.
- [71] :Wong, C.C., Li H.B., Cheng, K.W., Chen, F. (2006)A systematic survey ofAntioxidantactivity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxydant power assay *Food Chem.* 97 : 705-711.
- [72] : SOUFIT SAMIRA ., BENNA d'otomyose CER KAHINA.,(2014).Évaluation de l'activité Antioxydante l'extrait méthanolique et l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*.
- [73] : Boullard, B. (2001) ; *Plantes médicinales du monde réalités et croyances*. ESTEM (Ed) Paris.660 p.
- [74] : AthammiaInès., Djaibetchaima ,ZeghdoudiGhania.,(2018).Étude de l'activité Antifongiques des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L .et du *Thymus Capitatus* L. Sur des agents : cas d'aspergillus Niger. Université 8 Mai 1945 Guelma.
- [75] Borges, R. S., Ortiz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., & Carvalho, J. C. T. (2019). *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of ethnopharmacology*, 229, 29-45.
- [76].Jafari-sales, A., & Pashazadeh, M. (2020). Study of chemical composition and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 3(1), 62-69.
- [77] .Selmi, S., Rtibi, K., Grami, D., Sebai, H., & Marzouki, L. (2017). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil components exhibit anti-hyperglycemic, anti-hyperlipidemic and antioxidant effects in experimental diabetes. *Pathophysiology*, 24(4), 297-303.

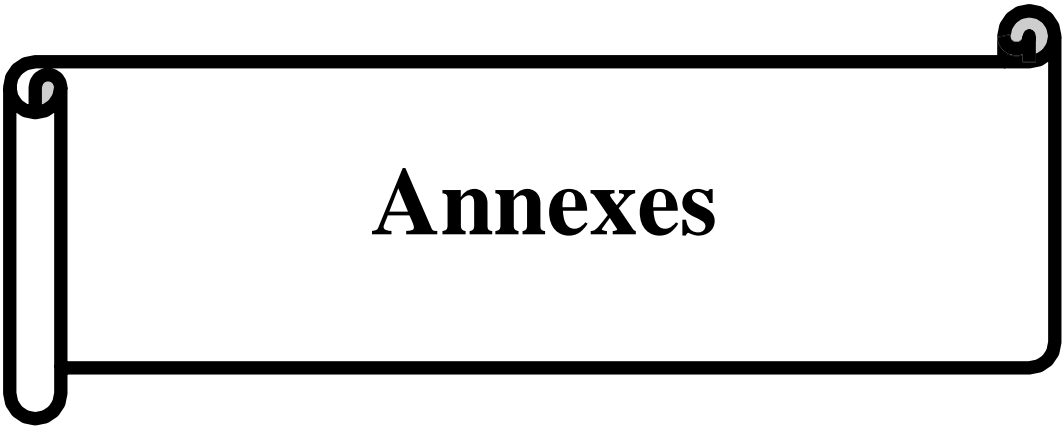
Références bibliographiques

- [78] : Bounab S., 2020. Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila): étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales, Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, P 10.11.53.
- [79] : Chenni, M. (2016). Etude comparative de la composition chimique de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic *Ocimum basilicum* L. extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. [Thèse de doctorat]. Université d'Oran 1 Ahmed BenBella, Algérie
- [80] : Calsamiglia-Mendlewicz, G. (2007). Finite determinacy of dicritical singularities in $(\mathbb{C}^2, 0)$. In *Annales de l'institut Fourier* (Vol. 57, No. 2, pp. 673-691).
- [81] : Kellal S. et Boumekla M., 2019
- [82] : Bouhaddouda N., 2016. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*, Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie, P 4- 41.
- [83] : Fahed L. 2016. Diversité chimique et potentiel antimicrobien d'huiles essentielles de plantes libanaises. Thèse de doctorat, Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, Ecole Doctorale Sciences de la Nature et de l'Homme – ED 227, Français, 173 p.
- [84] : Bouzid D. 2018. Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 105 p.
- [85] : Fatimazahra, M., Jamila, C., Achraf, A., Maaghloud, F. E., Nour-eddine, C., & Mohamed, D. (2024). Eucalyptol from *Rosmarinus officinalis* L. as an Antioxidant and Antibacterial Agent against Poultry-Isolated Bacterial Strains: in Vitro and in Silico Study. *Chemistry Africa*, 1-12.
- [86] Chebaibi, A., Z. Marouf, F. Rhazi-Filali, M. Fahim, and A. Ed-Dra. 2016. -Évaluation Du Pouvoir Antimicrobien Des Huiles Essentielles de Sept Plantes Médicinales Récoltées Au Maroc. *Phytotherapie* 14 (6): 355–62.
- [87] Amatiste, Simonetta, Daniele Sagrati, Giuseppina Giacinti, Giulia Rosa, Virginia Carfora, Nicola Marri, Andreana Tammara, Emanuela Bovi, and Remo Rosati. 2014. -Antimicrobial Activity of Essential Oils Against *Staphylococcus Aureus* in Fresh Sheep Cheese. *Italian Journal of Food Safety* 3 (3): 148–50.
- [89] Amara N., Boughérara Y. (2017). Activité Antimicrobienne de l'Huile Essentielle du Cyprès Vert (*Cupressus sempervirens* L.). *Algerian Journal of Natural Products* 5: 455-462.
- [90] Ahmadi-Dastgerdi A., Ezzatpanah H., Asgary S., Dokhani S., Rahimi E. (2017). Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Flowers and

Références bibliographiques

Leaves of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 20: 395-409.

[91] Zhang Y., Liu X., Wang Y., Jiang P., Quek S. (2016). Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control* 59: 282-289.



Annexes

Annexes

L'annexe :

Annexe 01: Matériel du laboratoire

Appareillage	Verrerie	Autre
<ul style="list-style-type: none"> -Microscope optique. -Etuve de 37°C. -Bain marie. -Autoclave. 	<ul style="list-style-type: none"> -Boite de pétri. - Lames. -Lamelles. -Pipette pasteur. -Bécher. -Tubes à essai. -Flacons en verre. 	<ul style="list-style-type: none"> -Ecouvillon stériles. -Anse de platine. -Les disques d'antibiogramme. -Bec bunsen. -Pince. -Portoirs de tube -Gants. -Masques chirurgicaux. -Compresse - Seringues de 5ml - Galerie Api 20 E -Micropipette. -Papier aluminium. -Embouts.

Annexe 02 : Produits et milieux utilisés

Colorant	Les milieux de cultures	Autre
<ul style="list-style-type: none"> - Violet de Gentiane - Fushine - Lugol - Alcool éthylique 	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu Gélose Nutritif. - Milieu Hektoen. - Milieu Chapman. - Milieu MAC Conkey. - Milieu Mueller Hinton. - Bouillon d'enrichissement. 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau distillée - Eau oxygénée - Eau physiologique - Eau physiologique - Huile d'immersion - Huile de paraffine - Le DMSO

Annexes

Annexe 03 : Préparations et conditions de déférant prélèvement :

 **Prélèvement des urines (ECBU) :**

- **Etude macroscopique :**

Après homogénéisation d'urine on note :

Aspect: clair, limpide, trouble

Couleur: acajou, jaune paille

- **Etude cytotbactériologique :**

Un examen qui peut fournir des informations très précieuses pour le diagnostic et le traitement d'une infection.

Technique

-Entre une cellule de mallassez et une lamelle, la chambre de la cellule est remplie par l'échantillon à l'aide d'une seringue stérile.

- L'observation est effectuée au microscope optique au grossissement×40.

Lecture

Cela permet de voir les différents types de cellules présentes dans l'échantillon (les hématies « GR », les leucocytes « GB » et les cellules épithéliales, les levures, les cristaux, la flore microbienne) et de calculer les éléments blancs par mm³ (EB/mm³).

- **Etude bactériologique :**

Elle correspond à la mise en culture du germe qui se fait comme suit :

-Prendre une goutte d'urine à l'aide d'une anse à boucle stérilisée.

-La goutte estensemencé en stries serrées sur le milieu de culture(le plus idéal c'est le milieu chromogène mais on peut aussi utiliser la GN).

- Les boites sont incubées à37°C pendant24H.

 **Hémoculture**

Le prélèvement fait par ponction veineuse au niveau d'une veine superficielle en évitant toute contamination par les germes cutanées pour n'est pas gêner l'interprétation plus tard (l'antisepsie cutanées doit être parfaite).les volumes de sang àensemencer: chez l'adulte recommandé est de 10 ml par flacon cependant chez le nouveau-né 1 ml est nécessaire.

- **Méthode automatique**

Les flacons d'hémoculture sont acheminés au laboratoire, par la suite ils sont incubés directement dans le Bact-alert (un automate qui donne une signalisation positive ou négative : présence ou absence des germes)

Annexes

Si c'est positif la culture sur la GSC et la GSF est lancée en ensemencement par les techniques des quatre quadrants. Incubation se fait dans une jarre à 37°C pendant 24 h voir 48 h.

- **Méthode classique**

- Les flacons de sang (flacons en verre) sont directement incubés à 37°C jusqu'au lendemain
- Après incubation, les flacons subissent la culture de premier jour.

- ✚ **Prélèvement du pus**

Le pus est recueilli la plus part de temps dans deux écouvillons (quand il n'y a pas assez de pus comme dans les plaies) dans un récipient stérile ou dans une seringue. Technique

- Mettre du BHIB pour chaque écouvillon afin de diluer l'échantillon ;
- A partir de l'un des écouvillons, l'échantillon est déposé sur quatre milieux de culture par ordre : GSC, GSF, Hektoen et Chapman. Puis ceux-ci sont ensemencés par la technique des quatre quadrants à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Ensuite une petite quantité de l'échantillon est versée dans le bouillon BHIB pour l'enrichissement
- Le deuxième écouvillon sert à réaliser un ensemencement sur milieu Sabouraud, et un état frais (déposer quelque goutte de l'échantillon sur une lame, recouvrir par une lamelle et observation au microscope optique au G×40).
- Incubation des boîtes, Sabouraud et BHIB dans une étuve à 37°C pendant 24 h pour la GSC et la GSF sont incubées en anaérobiose dans une jarre).

NB : lorsque le prélèvement est recueilli dans un récipient ou dans une seringue on suit les mêmes étapes sauf que l'on dépose l'échantillon sans diluer.

Lecture

- L'état frais permet d'observer les différents types de cellules (hématies, leucocytes, cellule épithéliale...).
- Le milieu Sabouraud est utilisé pour identifier la présence de levures.

Annexe04:Principe des examens cyto bactériologique

- ✚ **A l'état frais:**

L'examen direct à l'état frais qui concerne les écouvillons du vagin, il permet d'apprécier la morphologie et l'abondance des bactéries, et d'observer leur mobilité et ainsi de rechercher la présence de levures ou filaments mycéliens, de cellules épithéliales, de polynucléaires et de globules rouges.

- ✚ **Test catalase:**

La catalase est utilisée pour détecter la présence de l'enzyme catalase dans un échantillon biologique. La catalase est une enzyme qui décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et

Annexes

en oxygène, et sa présence peut être utilisée pour identifier certaines bactéries ou évaluer l'activité enzymatique dans les tissus.

✚ Test coagulas:

La coagulase est une protéine extracellulaire qui se lie à la prothrombine de l'hôte. La thrombine ainsi activée transforme le fibrinogène en fibrine. C'est la base du test de la coagulase.

✚ Antibiogramme:

Est de déterminer la sensibilité ou la résistance des bactéries à différents antibiotiques. Il s'agit de tester des isolats bactériens contre un panel d'antibiotiques afin d'identifier ceux qui sont efficaces pour inhiber ou tuer les bactéries. Il fournit des informations importantes pour guider l'antibiothérapie et aide à sélectionner les antibiotiques appropriés pour le traitement des infections bactériennes.

✚ La galerie API20E

La galerie API20E est une version miniaturisée des tests biochimiques classiques destinée à l'identification des *Enterobacteriaceae*, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés.

Annexe05: Coloration de Gram

✚ Technique

- ✓ **La coloration au violet de Gentiane (colorant basique):** la lame est plongée pendant 2 à 3 minutes (en fonction de la concentration) dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les Bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau déminéralisée.
- ✓ **Mordantage au lugol (solution iodo-iodurée) :** étaler le lugol et laisser agir 20 secondes. Rincer à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.
- ✓ **Décoloration à l'alcool :** verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée Obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la Décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée. L'alcool pénètre dans la bactérie. La Coloration au violet de Gentiane disparaît. Les bactéries décolorées sont des bactéries (Gram-). Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries (Gram+).
- ✓ **Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine:** laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C entre 10 à 15 minutes. Les bactéries (Gram-)

Annexes

sont colorées en rose.