

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العلي والبحث العلمي

MINISTERE 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

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Étude préliminaire élaboration d'un biogel innovant à activité
antibactérienne à base d'huile essentielle naturelle

Présenté par : *BEHLOUL Sana*
BELBALI Nihad
BOUAFFAR Nour Edouha
HACHICHA Rayane

Membre de Jury :

Dr AGGOUN Asma	(MCB)	Président	Univ. 20 Août 1955 Skikda
Dr GHANNAM Maya	(MCA)	Promoteur	Univ. 20 Août 1955 – Skikda
Dr BOUDJELLAB Zine Eddine	(MCA)	Examineur	Univ. 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2024/2025

Remerciement

Nous tenons avant tout à remercier *Dieu* le tout puissant, pour nous avoir accordé la santé, la patience, la force et la volonté nécessaires à l'accomplissement de ce travail. Sans Sa bénédiction et Sa guidance, ce mémoire n'aurait pu voir le jour.

Nous exprimons ensuite notre profonde gratitude à notre directrice de mémoire, *Dr. Ghannam Maya*, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité, sa patience et la confiance qu'elle nous a témoignée tout au long de ce travail de recherche. Ses conseils avisés, son expertise et son soutien constant ont été d'une aide précieuse et ont grandement contribué à la réussite de ce mémoire.

Nous tenons à adresser nos remerciements les plus sincères à *Dr. Boudjellab Zine Eddine*, non seulement pour avoir accepté d'évaluer ce mémoire en tant qu'examineur, mais également pour son accompagnement précieux tout au long de la phase pratique de notre travail. Grâce à ses conseils méthodologiques, à son orientation rigoureuse et à la clarté de ses explications, nous avons pu structurer notre démarche de recherche de manière efficace.

Nous remercions également *Dr. Aggoun Asma*, présidente du jury, pour avoir accepté d'évaluer notre travail. Ses observations pertinentes et constructives ont été très appréciées. Son regard critique et ses remarques éclairées ont contribué à enrichir notre réflexion et à valoriser davantage ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre sincère reconnaissance à *Mr. Zaid Nassar*, qui nous a accueillis durant notre stage et nous a offert une aide précieuse, tant sur le plan technique que pratique. Son accompagnement a fortement enrichi notre expérience sur le terrain.

Nous adressons également nos vifs remerciements aux doctorantes *Boulehsa Asma* et *Feraguena Imane* pour leur disponibilité, leur soutien et leur aide précieuse, notamment durant la phase pratique du mémoire. Leur accompagnement a été d'un grand apport à la concrétisation de ce travail.

Nos remerciements vont également à l'ensemble des enseignants du département des sciences de la nature et de la vie de l'Université de 20 Août 1955 Skikda, pour la qualité de leur enseignement, leur engagement et les connaissances qu'ils nous ont transmises tout au long de notre parcours universitaire.

Dédicace

« وَقُلْ أَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ »

سورة التوبة الآية (105)

Louange à **Dieu**, par la grâce duquel les efforts s’accomplissent, les chemins s’éclairent, et les espérances prennent sens. Ce mémoire est le fruit d’un parcours semé de patience, de foi et d’amour sincère.

À celle qui fut la première école de la vie, à celle dont le silence fut ma sagesse, et dont le regard fut ma force... À celle qui m’a portée dans son cœur avant même de me porter dans ses bras, A celle qui m’a appris que la patience est lumière, et l’amour, un acte de foi... Ma chère mère **Medaief Hassiba**.

Je te dédie chaque mot, chaque ligne, chaque victoire. À celui dont la présence silencieuse fut mon pilier, À celui dont les sacrifices discrets ont tracé mon chemin. Mon père **Behloul Lehlali**,

Que ce travail soit le reflet de ta confiance en moi.

À l’ami, au frère, au soutien inconditionnel, **Behloul Boubaker**, Merci pour ta force, ton humour et ton écoute.

À mes sœurs, mes miroirs, mes confidentes, **Behloul Meriem** et **Behloul Fatima Zahraa**,

Que nos chemins restent toujours liés par l’amour et les rires partagés.

À mes compagnons de route universitaire, Avec qui j’ai partagé les doutes, les espoirs et les cafés tardifs... **Nour Edouha**, **Nihad**, **Rayane**, Merci d’avoir illuminé mes jours de doute et d’effort.

Et à mon amie de cœur, Celle qui connaît mes silences et comprend mes absences, Celle dont l’amitié est un havre de paix... **Kaoutar**, Ce mémoire est aussi le tien.

À tous ceux qui ont cru en moi, de près ou de loin... À ceux qui restent dans mes prières, même dans le silence... Je vous dédie ce travail, humble fruit de mes efforts.

Sana

Dédicace

Avant toute chose, je rends grâce à **Allah**, Source de vie, de force et d'inspiration, pour m'avoir guidé et soutenu tout au long de ce parcours. Sans Sa miséricorde et Sa lumière, rien n'aurait été possible.

A mon père **Aziz**, pilier de sagesse et d'endurance, dont les sacrifices silencieux et l'amour inconditionnel m'ont toujours poussé à avancer.

À ma chère mère **Yasmina**, source infinie de tendresse, de patience et de prières. Ton soutien constant, ta foi en moi et ton amour maternel ont été ma plus grande force.

Que Dieu vous protège et vous récompense pour tout ce que vous avez fait pour moi.

À mon frère **Ziad**, Tu es bien plus qu'un frère, tu es un repère, un appui solide dans ma vie. Merci pour ta loyauté, ton écoute, ton humour qui apaise, et ta présence qui rassure. Dans les moments de doute comme dans les instants de joie, tu as toujours été là, sans jamais faillir.

Que Dieu te récompense pour ton cœur noble et t'accorde une vie pleine de réussite et de sérénité

À mes chères sœurs **Asma et Soundous**, Merci pour votre présence chaleureuse, vos encouragements sincères et votre amour inconditionnel. Vous avez été pour moi des compagnes de route, des confidentes, et des sources de réconfort dans les moments de doute. Votre tendresse, vos mots rassurants et vos sourires ont allégé bien des fardeaux.

Que Dieu vous garde et vous comble de bonheur, comme vous avez su illuminer ma vie par votre affection.

À mes petits trésors, les enfants de ma sœur **Djouri, Fadi, Ibtihel Cherifa**, Même si vous ne comprenez pas encore tout ça, sachez que vous occupez une place immense dans mon cœur. Vous êtes parfois bruyants, souvent malicieux... mais toujours adorables. Avec vos petits gestes, vos rires et vos câlins, vous apportez de la lumière dans mes journées les plus grises.

Je vous dédie ce travail avec tendresse et un sourire, en espérant qu'un jour, vous le lirez fièrement et que cela vous donnera envie, vous aussi, de construire de belles choses.

À mes précieuses amies **Rayane, Nour Edouha et Sana**, Dans les moments de doute comme dans les éclats de rire, vous étiez là. Merci pour votre présence, votre cœur, et votre amitié précieuse. Ce travail porte un peu de chacune de vous.

Nihad

Dédicace

Avant toute chose, je rends grâce à Allah سبحانه وتعالى,

C'est par Sa volonté que ce travail a pu voir le jour. C'est par Sa guidance que j'ai pu avancer, même dans les moments de doute et de fatigue.

C'est Lui qui m'a accordé la force, la patience, la persévérance et la lumière intérieure pour continuer, jour après jour.

Puisse ce modeste travail être agréé par Lui, et puisse-t-Il m'accorder encore la sincérité, la droiture et la réussite dans tout ce que j'entreprendrai.

Alhamdoulilah.

À mon père, **Bouaffar Ahmed**, mon modèle, mon exemple de force, de persévérance et de sagesse. Tes sacrifices, visibles ou invisibles, ont bâti les fondations de mon avenir. Ta confiance silencieuse, ton regard fier et ton amour discret m'ont toujours portée plus loin que je ne l'aurais cru possible. Ce mémoire, papa, est aussi le tien.

À ma mère, **Oudina Leila**, il n'existe pas de mots assez puissants pour exprimer ce que je ressens pour toi. Tu es la tendresse incarnée, le cœur qui bat pour les autres avant soi. Tu es celle qui m'a encouragée quand j'avais envie d'abandonner, qui a prié pour moi quand je ne le faisais plus, qui a cru en moi même quand moi-même je doutais. Ce mémoire est une page de ton amour, de ta patience, de ton immense cœur.

À mes sœurs adorées, **Widjdane, Hana et Meriem**, mes complices de vie. Vous êtes mes repères, mes rires, mes confidences, ma force dans les moments où tout vacille. Merci d'avoir été là, simplement là, avec votre amour, vos mots, votre chaleur.

À mon frère **Abdou**, mon pilier, et sa femme **Chaima**, douce et bienveillante. Merci pour votre présence, vos encouragements discrets mais sincères. Vous êtes une force tranquille dans ma vie.

À mes compagnons de route dans cette aventure académique : **Sana, Nihad et Rayene**, merci pour votre soutien, votre esprit d'équipe, et tous les moments partagés avec sincérité.

Enfin, je me dédie ce mémoire, à **moi-même**, pour avoir persévéré malgré les épreuves, pour avoir cru en mes rêves, même dans les moments les plus sombres. Ce mémoire est le symbole d'un long voyage, celui de l'effort, de la patience et de la foi.

Nour Edouha

Dédicace

﴿ وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا ﴾

طه الآية 114

Il n'adoucit les nuits que par Son rappel, ni les journées que par Son obéissance. Aucun moment ne devient agréable sans l'évocation d'**Allah**, Gloire à Lui.

À celui qui a transmis le message et accompli le dépôt : notre maître **Mohammed** (paix et salut sur lui).

Le voyage est terminé. Il n'a pas été court, ni facile. Le rêve n'était pas proche, mais peu importe combien il a été long, il s'est déroulé avec ses douceurs et ses difficultés.

En ce moment de fierté, je dédie ce travail à :

Celui qui m'a élevé et a lutté pour moi, la lumière qui a éclairé mon chemin, à celui dont je porte fièrement le nom : que ta vie soit bénie, ô le plus noble des hommes. Je prie Allah de prolonger ta vie pour que tu voies les fruits de ce que tu as semé... mon cher père **Hachicha Salah**

À mon ange sur terre, le sens même de l'amour, la prunelle de mes yeux, ce que j'ai de plus précieux. À celle dont les prières ont été le secret de ma réussite, dont la tendresse a guéri mes blessures, à mon trésor et paradis de cœur, qui m'a accompagnée et guidée tout au long de ma vie... ma chère maman **Boughagha Fatima Zohra** qu'Allah la protège.

À mes piliers stables, celles qui ne faiblit jamais, mon refuge et mon soutien dans les moments difficiles, à mes sœurs **Hanane**, **Bouchra** bien-aimée.

À mes frères **Zakaria** et **Ilyes** chers à mon cœur, mes soutiens dans cette vie.

Et enfin, à mes précieuses camarades et sœurs de route **Nihad**, **Nour Edouha**, **Sana**, avec qui j'ai partagé chaque étape de ce projet. Merci du fond du cœur pour votre entraide, votre patience et vos efforts constants. Travail est aussi le vôtre.

Louange à Allah pour la bonne fin et l'accomplissement.

Rayane

Résumé

Les huiles essentielles représentent une alternative prometteuse aux agents antimicrobiens synthétiques, grâce à leurs propriétés naturelles et leur faible toxicité. Dans ce travail, nous avons élaboré un gel antibactérien à base de trois huiles essentielles : *Laurus nobilis*, *Mentha piperita*, et *Picea mariana*, incorporées dans deux types de gels : un formulé avec de la gomme xanthane, et l'autre avec de l'agar-agar.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité antibactérienne de ces formulations contre trois souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats ont montré que seul le gel à base de gomme xanthane a présenté une activité modérée contre *Escherichia coli*, tandis qu'aucune activité antibactérienne n'a été observée contre les autres souches. Les formulations à base d'agar-agar n'ont pas montré d'effet significatif.

Ces résultats indiquent que, bien que certaines huiles aient un potentiel antibactérien, leur efficacité peut être limitée par la forme galénique ou la concentration utilisée. Des études supplémentaires sont nécessaires pour optimiser la formulation, notamment en ajustant les proportions ou en combinant d'autres agents actifs pour renforcer l'efficacité antimicrobienne du gel.

Mots-clés : huiles essentielles, gel antibactérien, gomme xanthane, agar-agar, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

Essential oils are a promising alternative to synthetic antimicrobial agents due to their natural origin and low toxicity. In this study, we formulated an antibacterial gel using three essential oils: *Laurus nobilis*, *Mentha piperita*, and *Picea mariana*, incorporated into two types of gels: one based on xanthan gum, and the other on agar-agar.

The main objective of this work was to evaluate the antibacterial effectiveness of these gel formulations against three bacterial strains: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*,

Results showed that only the gel formulated with xanthan gum exhibited moderate antibacterial activity against *Escherichia coli*, while no effect was observed against the other strains. The agar-based gels did not show any significant activity.

These findings suggest that while some essential oils possess antibacterial potential, their effectiveness may be limited by formulation factors such as concentration or gel base. Further research is needed to optimize the composition, possibly by increasing the oil concentration or combining with other active agents to improve antimicrobial efficiency.

Keywords: essential oils, antibacterial gel, xanthan gum, agar-agar, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

المخلص

تعتبر الزيوت الأساسية واحدة من أهم العلاجات الطبيعية التي تستعمل في الطب الشعبي والبدليل لعلاج العديد من الأمراض. في هذا البحث، تم تحضير جل طبيعي مضاد للبكتيريا باستخدام ثلاث زيوت أساسية وهي زيت الرند (*Laurus nobilis*) ، زيت النعناع (*Mentha piperita*) ، وزيت الصنوبر الأسود (*Picea mariana*). تم دمج هذه الزيوت في جل طبيعي باستخدام الصمغ الزانثان (Gomme xanthane) والأجار (Agar-agar) كوسيط.

الهدف من هذا العمل هو تقييم فعالية الجل ضد ثلاثة أنواع من البكتيريا *Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus*، و *Pseudomonas aeruginosa* .

أظهرت النتائج أن الجل المعد باستخدام الصمغ العربي أظهر نشاطاً معتدلاً ضد سلالة *Escherichia coli* ، حيث تم ملاحظة مناطق محدودة من التثبيط. ولكن لم يظهر أي تأثير ضد السلالات الأخرى مثل *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*. كما تم استخدام الأجار (Agar-agar) كبديل للصمغ الزانثان، ولكن هذا المزيج لم يظهر أي فعالية ضد البكتيريا المختبرة.

وعلى الرغم من النتائج المحدودة التي أظهرتها الزيوت الأساسية، فإن الجيل المعد باستخدام الصمغ العربي أظهر بعض الإمكانيات المستقبلية في التطوير كجيل مضاد للبكتيريا طبيعي يمكن تحسينه. يُقترح أن زيادة تركيز الزيوت أو تعديل طريقة التحضير يمكن أن يسهم في تحسين الفعالية. كما تم التأكيد على ضرورة تحسين طريقة استخدام الزيوت في التركيبات الجيلية لتحقيق أفضل تأثير مضاد للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، الجل المضاد للبكتيريا، الصمغ الزانثان ، الأجار، *Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa*

Liste des Abréviation

AAR : Analyse antibactérienne relative

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AMP : Ampicilline

ARN : Acide RiboNucléique

ATCC : American Type Culture Collection

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration Minimales Inhibitrices

DO : Densité optique

E.coli : *Escherichia coli*

ExPEC : Extraintestinal Pathogenic *Escherichia Coli*

ExPSP: Etablissement Public de Santé de Proximité

GN : Gélose nutritive

HE : Huiles Essentielles

InPEC : Intestinal Pathogenic *Escherichia Coli*

MH : Mueller-Hinton

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

Ph : Potentiel Hydrogène

VBNC : Viable But Non-Cultivable

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Menthe poivrée	11
02	Épinette noire	14
03	Laurier noble	16
04	<i>E.coli</i> en microscopie électronique à balayage	22
05	photo réelle d' <i>E.coli</i> ATCC 25922 sur gélose nutritive	22
06	<i>Staphylococcus aureus</i> en microscopie électronique à balayage	24
07	Photo réelle de <i>S aureus</i> , sur gélose nutritive	25
08	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> en microscope électronique à balayage	27
09	Photo réelle de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
10	Souches des références d'ATCC	30
11	Souche bactérienne clinique	31
12	Préparation d'un gel antibactérien par la gomme xanthane	34
13	Préparation d'un gel antibactérien par l'agar-agar	36
14	Souches bactériennes repiquées	37
15	Suspensions bactériennes d' <i>Escherichia coli</i>	38
16	Suspensions bactériennes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
17	Suspensions bactériennes de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
18	Ensemencement de <i>S. aureus</i>	39
19	Ensemencement d' <i>E. coli</i>	39
20	Ensemencement de <i>P. aeruginosa</i>	39
21	Dénombrement des colonies isolées (UFC/0,05ml) par le compteur de colonies	39
22	Courbe d'étalonnage et l'équation de régression d' <i>Escherichia coli</i>	40
23	Courbe d'étalonnage et l'équation de régression de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
24	Courbe d'étalonnage et l'équation de régression de <i>Staphylococcus aureus</i>	42
25	Suspensions des souches bactériennes <i>E.coli</i> , <i>P.aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i> dans des écouvillons stériles	43
26	Microscope optique	44
27	Réfractomètre	45
28	Indice de réfraction d'huile essentielle de menthe poivrée	46
29	Indice de réfraction d'huile essentielle d'épinette noire	46
30	Indice de réfraction d'huile essentielle de laurier noble	46
31	<i>Escherichia coli</i> en microscope	48
32	<i>Staphylococcus aureus</i> en microscope	48
33	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> en microscope	48
34	Zones d'inhibition d' <i>E.coli</i> avec les gels testés (diffusion en puits)	50
35	Zones d'inhibition de <i>S. aureus</i> avec les gels testés	53
36	Zones d'inhibition de <i>P. aeruginosa</i> avec les gels testés	54

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Principaux composés biochimiques présents dans les huiles essentielles	08
02	Classification taxonomique de la menthe poivrée	12
03	Classification taxonomique de l'épinette noire	14
04	Classification taxonomique de laurier noble	16
05	Taxonomie d' <i>Escherichia coli</i>	21
06	Taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i>	23
07	Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	26
08	Caractéristiques des souches bactériennes de référence issues de l'ATCC	29
09	Origine et caractéristiques de la souche bactérienne clinique isolée	30
10	Liste du matériel utilisé dans cette étude	32
11	Densité optique d' <i>Escherichia coli</i>	38
12	Densité optique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
13	Densité optique de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
14	Dénombrement des colonies isolées d' <i>Escherichia coli</i> (UFC/1ml)	40
15	Dénombrement des colonies isolées de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC/1ml)	41
16	Dénombrement des colonies isolées de <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/1ml)	41
17	Densité optique de chaque souche bactérienne équivalente à 0,5 sur l'échelle de McFarland ($\sim 1.5 \times 10^8$ UFC/mL).	42
18	Indice de réfraction brut des huiles essentielles	46
19	Indice de réfraction des huiles essentielles corrigé à 20 °c	47
20	Aspect microscopique des colonies après la coloration de gram	48
21	Zones d'inhibition (gel à la gomme)	51
22	Analyse statistique de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles contre <i>E. coli</i>	51

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	----------

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Plantes Médicinales

1. Définition de la phytothérapie.....	3
2. Types de phytothérapie	3
2.1. La gemmothérapie	3
2.2.L'homéopathie	3
2.3.L'aromathérapie	3
3. Plantes médicinales	4
4. Principes actifs	4
4.1.Flavonoïdes.....	4
4.2.Tanins	5
4.3.Alcaloïdes	5
4.4.Terpènes	5
4.5.Résines	5
4.6.Vitamines	5
4.7.Minéraux	6
5. Huiles Essentielles.....	6
5.1.Définition	6
5.2.Répartition et localisation dans la plante.....	6
5.3.Rôles physiologiques	6
5.4.Caractéristiques des huiles essentielles	7
4.5.1. Propriétés organoleptiques	7
4.5.2. Propriétés physiques	7
5.5.Composition biochimique des HE	8
6. Présentation des plantes médicinales étudiées	11
6.1.Menthe poivrée	11
6.1.1. Généralité	11
6.1.2. Classification taxonomique	11
6.1.3. Distribution géographique	12
6.1.4. Principes actifs	13
6.2.Épinette noire	13
6.2.1. Généralité	13
6.2.2. Classification taxonomique	14
6.2.3. Distribution géographique	14

Sommaire

6.2.4. Principes actifs	15
6.3.Laurier noble	15
6.3.1. Généralité	15
6.3.2. Classification taxonomique	16
6.3.3. Distribution géographique	16
6.3.4. Principes actifs	17
7. Agent gélifiants	17
7.1.Gomme xanthane	17
7.2.Agar agar	17
Chapitre 02 : Activité antimicrobienne des huiles essentielles	
1. Mode d'action des huiles essentielles	19
2. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de menthe poivrée (<i>Mentha piperita L</i>).....	19
3. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de l'épinette noire (<i>picea mariana</i>).....	20
4. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de laurier (<i>Laurus Nobilis L</i>).....	20
Chapitre 03 : Souches bactériennes étudiées	
1.Escherichia coli	21
1.1. Habitat	21
1.2. Taxonomie	21
1.3. Caractères morphologiques	21
1.4. Caractères cultureux	22
1.5. Pouvoir pathogène	23
2. Staphylococcus aureus	23
2.1. Habitat	23
2.2. Taxonomie	23
2.3. Caractères morphologiques	24
2.4. Caractères cultureux	24
2.5. Pouvoir pathogène	25
3. Pseudomonas aeruginosa.....	25
3.1. Habitat	25
3.2. Taxonomie.....	26
3.3. Caractères morphologiques	26
3.4. Caractères cultureux	27
3.5. Pouvoir pathogène	28

Sommaire

Partie pratique

1. Site d'accueil de l'étude expérimentale	29
2. Matériel	29
2.1. Matériel Biologique.....	29
2.1.1. Matériel végétal.....	29
2.1.2. Souches bactériennes utilisées	29
2.2. Matériel non Biologique.....	32
2.2.1. Agents gélifiants	32
3. Méthodes expérimentales.....	33
3.1. Préparation de gels antibactériens à base d'huiles essentielles	33
A. Formulation n°1 : Gel à base de gomme xanthane.....	33
B. Formulation n°2 : Gel à base d'agar-agar	35
3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	36
3.2.1. Repiquage des souches bactériennes	36
3.2.2. Préparation de la suspension bactérienne	37
3.2.3. Ensemencement et dénombrement des colonies	39
3.2.4. Établissement des courbes d'étalonnage et détermination de la densité optique cible	40
3.2.5. Préparation et ensemencement pour le test d'efficacité antibactérienne	42
4. Identification microscopique des bactéries	44
5. L'indice de réfraction	45

Résultats et discussion

1. Indice de réfraction	46
2. Identification microscopique	47
3. Détermination de l'activité antibactérienne des biogels	48
3.1. Test des puits contre <i>Escherichia coli</i>	48
A. Analyse antibactérienne relative (AAR)	51
B. Interprétation des calculs	51
C. Analyse de l'activité antibactérienne relative (AAR)	52
D. Analyse comparative et interprétation mécanistique.....	52
3.2. Test des puits contre <i>Staphylococcus aureus</i>	53
3.3. Test des puits contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
Conclusion	55



Introduction

Introduction

La résistance bactérienne aux agents antimicrobiens représente aujourd'hui un défi majeur pour la santé publique mondiale. L'utilisation massive, et parfois inappropriée, des antibiotiques au fil des décennies a favorisé l'émergence de souches pathogènes multirésistantes, compromettant ainsi l'efficacité des traitements classiques contre les infections bactériennes (**Ventola, C. L. 2015**). Cette situation alarmante nécessite la recherche de solutions alternatives, naturelles et durables, afin de prévenir et de traiter les infections de manière efficace sans aggraver la problématique de l'antibiorésistance. Parmi ces solutions prometteuses, l'exploitation des composés bioactifs issus de plantes médicinales, notamment les huiles essentielles, suscite un intérêt croissant dans le domaine biomédical (**Burt, S. 2004**).

En effet, les huiles essentielles, extraites de diverses parties de plantes aromatiques, possèdent de puissantes propriétés antimicrobiennes, antifongiques et antivirales. Riches en composés volatils tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes et les phénols, elles exercent leur action principalement par altération des membranes cellulaires bactériennes, perturbation des processus métaboliques internes et inhibition de la croissance microbienne (**Burt, S. 2004**) (**Bakkali et al. 2008**).

Grâce à leur large spectre d'activité et à leur faible propension à induire des résistances, les huiles essentielles représentent aujourd'hui une piste sérieuse pour le développement de nouveaux agents antibactériens d'origine naturelle, applicables tant dans le domaine médical que cosmétique (**Bakkali et al. 2008**).

Dans cette optique, notre étude s'inscrit dans le cadre de l'évaluation du potentiel antibactérien des huiles essentielles comme alternative naturelle aux antiseptiques conventionnels.

Trois huiles essentielles ont été sélectionnées pour cette étude en raison de leurs propriétés reconnues : l'épinette noire (*Picea mariana*), le laurier noble (*Laurus nobilis*) et la menthe poivrée (*Mentha piperita*). Chacune a été incorporée dans une base gélifiante naturelle, à savoir l'agar-agar ou la gomme xanthane, afin d'évaluer leur efficacité lorsqu'elles sont intégrées dans un support cosmétique.

L'activité antibactérienne des différents gels obtenus a été testée in vitro à l'aide de la méthode de diffusion en milieu solide, contre trois souches bactériennes de référence : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Introduction

Ainsi, cette étude vise à contribuer à une meilleure compréhension de l'intérêt thérapeutique des huiles essentielles dans la prévention des infections bactériennes, notamment dans un contexte de résistance croissante aux antibiotiques.



Synthèse bibliographique

1. Définition de la phytothérapie :

La phytothérapie est un terme d'origine grecque, composé de « **phyto** » (plante) et « **therapeuein** » (soigner), signifiant littéralement «**la thérapie par les plantes**». (Fleurentin et al, 2009)

Elle se définit comme une discipline appartenant aux médecines naturelles, visant à prévenir ou à traiter certains troubles fonctionnels et états pathologiques à l'aide de plantes médicinales, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes. (Brunton,J, 1999)

2. Types de phytothérapie :**2.1.Gemmothérapie :**

Le mot « gemmothérapie » vient du latin « gemmae » signifiant « bourgeon », du grec «therapeia » signifiant « cure ». On parle donc de cure, de thérapie par les bourgeons. (Andriane, 1998).

Elle utilise des tissus végétaux vivants à caractère embryonnaire tels que les bourgeons frais, les jeunes pousses, les radicules, l'écorce interne de racines ou encore de tiges (Morel, 2012).

2.2.Homéopathie :

L'homéopathie se décompose étymologiquement en « homeos » qui signifie similaire et en «pathos » c'est-à-dire ce que l'on éprouve : la souffrance, la maladie. ». Elle a été mise au point par le médecin allemand Samuel Hahnemann il y a environ 200 ans (Gerunwald et Janicke, 2006). Le principe de base de l'homéopathie est la règle de similitude « les semblables sont guéris par les semblables » (Gerunwald et Janicke, 2006).

2.3.Aromathérapie :

Le mot « aromathérapie » est un néologisme créé dans les années 1930 par le chimiste René-Maurice Gattefossé qui vient du latin aroma, aromate et du grec therapeia, traitement. Thérapeutique par les HE végétales, utilisées par voie interne ou externe, sous forme de teinture, d'extrait aromatique, d'infusion etc ... (Garnier, et al., 2009)

3. Plantes médicinales :

La plante est un organisme vivant, marque son identité par des spécificités morphologiques, à l'origine de la classification botanique, mais aussi biochimiques, liées à des voies de biosynthèses inédites, représentant l'intérêt de l'usage des plantes médicinales. (SANAGO R., 2006)

Selon la Pharmacopée française, il s'agit de drogues végétales dont une ou plusieurs parties possèdent des propriétés médicinales avérées, tout en pouvant également être utilisées à des fins alimentaires, hygiéniques ou condimentaires (GOEB Ph, 1999).

En d'autres termes nous pouvons dire que les plantes médicinales regroupent l'ensemble des plantes dont un ou plusieurs de leurs organes sont utilisés pour leurs vertus Thérapeutiques. (COWAN M.M., 2010)

4. Principes actifs :

Les principes actifs sont des molécules contenues dans des plantes ou des préparations à base de plantes utilisées dans la fabrication de médicaments ; ils ont une activité thérapeutique curative ou préventive sur l'homme ou l'animal. La teneur de ces composés dans les plantes est généralement extrêmement faible, mais ce sont des ingrédients essentiels. Par conséquent, il est parfois important de réaliser une extraction pour isoler la seule partie de la plante d'intérêt (Ouled Cheikh Yahya, T. B. D. 2021).

4.1.Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des substances phénoliques qui représentent un large groupe des métabolismes secondaires des plantes, ils sont produits dans toutes les parties de la plante et sont largement distribués dans les aliments et les boissons de la plante. Les flavonoïdes sont des pigments végétaux solubles dans l'eau responsables de la coloration des fleurs, des fruits, parfois des feuilles. La coloration due à la présence de flavonoïdes est généralement la coloration jaune, sont synthétisés au niveau des chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles.

Les flavonoïdes ont été décrits comme agent de promotion de la santé avec des effets biologiques in vitro et éprouvés, telle que : Activité antioxydant, anti-inflammatoire, anticancéreux, cardiovasculaire. En plus des activités biologiques décrites, les flavonoïdes présentent d'autres avantages pour la santé, pour les flavonoïdes d'instance ont anti-allergique, anticoagulant, antiplaquettaire, activité antimicrobienne, activité antidiabétique (Abed A. Oius I. 2015)

4.2.Tanins :

Les tanins sont des formes phénoliques condensées. Le terme tannin vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuire. Dans la nature les tannins se trouvent dans nombreuses plantes supérieures telles le bois de chêne. Ils ont l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, et protéines. Les tanins sont classés en 2 groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Houchine, T. 2020**).

4.3.Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances d'origine biologique et le plus souvent végétale (Ils sont rare dans le règne animal), éventuellement reproductibles par synthèse, azotées, de réactions alcalines plus ou moins prononcées et douées à faible dose de propriétés pharmacodynamiques marquées.

Les alcaloïdes renferment toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, et le plus souvent, en plus, de l'oxygène (exceptionnellement quelques alcaloïdes contiennent du soufre). Les alcaloïdes donc sont des produits aminés naturels qui ont des effets physiologiques sur l'organisme humain (**Boutera K. Hammoudi I. 2016**).

4.4.Terpènes :

Les terpènes font partie des métabolites secondaire des plantes et particulièrement des composés organiques volatils. Les terpènes sont des hydrocarbures non azotés, très réactifs. Ils possèdent des activités biologiques : antimicrobienne, insecticide, antiinflammatoire, anesthésique et antihistaminique (**les monoterpènes et les sesquiterpènes**). Ces derniers, un des éléments principaux des huiles essentielles (**Boudissa H.2015**).

4.5.Résines:

Sont des substances organiques non volatiles produites par l'écorce et le bois de certaines espèces d'arbres, principalement tropicales. Le dommage de l'écorce génère l'apparition de la résine, liquide épais, visqueux et collant inflammable non soluble dans l'eau de couleur jaune ou brune. (**Ouled Cheikh Yahya, T. B. D. 2021**).

4.6.Vitamines :

Sont des substances qui agissent à faibles doses, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines, on distingue les vitamines hydrosolubles et liposolubles. (**Haba K. 2018**).

4.7.Minéraux :

De nombreuses plantes médicinales sont très riches en minéraux. Ils sont nécessaires à divers fonctions métaboliques, à la différence des enzymes, non catalyseurs. Les plantes, notamment celles issues de l'agriculture biologique, tirent les minéraux du sol et les transforment en une structure aisément assimilable par l'organisme (**Haba K. 2018**).

5. Huiles essentielles :**5.1.Définition**

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques volatiles extraites de plantes, principalement par distillation à la vapeur d'eau ou par pression à froid. Elles contiennent des principes actifs spécifiques aux plantes dont elles sont issues et possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques, telles que des effets antibactériens, antiviraux, anti-inflammatoires, analgésiques, et relaxants. Les huiles essentielles sont souvent utilisées en aromathérapie, mais elles peuvent également être administrées par voie interne, externe (application cutanée), ou par inhalation, selon le type de traitement. (**Tisserand et al, 2014**)

5.2.Répartition et Localisation des huiles essentielles dans la plante :

Les huiles essentielles n'existent que chez un nombre limité de végétaux (environ 10%) appelés végétaux supérieurs. (**Djibo AK ,2000**) (**Boukhatem MN, et al ., 2019**)

On estime à une cinquantaine de familles dont 17500 espèces de plantes qui produisent ces métabolites secondaires (**Bruneton J ,1993**) (**Lawrence BM ,1995**)

La synthèse et l'accumulation de ces métabolites secondaires dans un organe sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées qui, selon l'espèce botanique peuvent être des cellules sécrétrices, des poches sécrétrices, des poils sécréteurs ou des canaux sécréteurs (**Svoboda KP, 2003**) . On les retrouve dans divers organes de la plante tels que les fleurs (rose), les feuilles (citronnelle), les racines (iris), les écorces (cannelier) les rhizomes (gingembre), les bulbes (ail), le bois (cade), les fruits (vanillier) et dans les grains (muscade) (**Figueredo G, 2007**).

5.3.Rôle des huiles essentielles chez les plantes :

Le rôle des huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu.

Toutefois, Elles sont en général considérées comme des déchets du métabolisme ou des sous-produits de l'activité métabolique d'une plante (**Amiot, J., 2005**). Cependant,

plusieurs effets apparents utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines. Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et les microorganismes, favorisaient ainsi la pollinisation (**Bruneton, J., 1999**), (**Guignard, J.-L. and P. Potier, 2000**). Les travaux de Nicholas (**NICHOLAS H. J., 1973**) ont montré que les monoterpènes et sesquiterpènes peuvent jouer des rôles aussi variés qu'importants dans la relation des plantes avec leur environnement. Par exemple, le 1,8-cinéole et le camphre inhibent la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes. D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal, assurer leur ultime défense et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement (**Fouché J.G, et al., 2000**).

5.4.Caractéristiques des huiles essentielles :

5.4.1. Caractéristiques organoleptiques :

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire. Elles sont en général liquides à température ambiante, volatiles, inflammables, très odorantes et ne sont que très rarement colorées (**Ferhani K. Rezoug S. 2022**).

5.4.2. Caractéristiques physiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ont aussi des propriétés physiques communes. Elles ne sont pas solubles dans l'eau mais en revanche elles le sont dans les solvants organiques et huiles végétales. Par contre elles ont des caractéristiques différentes:

- **L'indice de réfraction :**

L'indice de réfraction est utilisé pour l'identification et comme critère de pureté des huiles essentielles et de composés liquides divers. Chaque substance a son indice de réfraction spécifique. Plus l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande. Cette pureté est définie dans des intervalles considérés comme acceptable. Cet indice peut être mesuré par un réfractomètre (**AHLEM, T. MAROUA, M. 2020**).

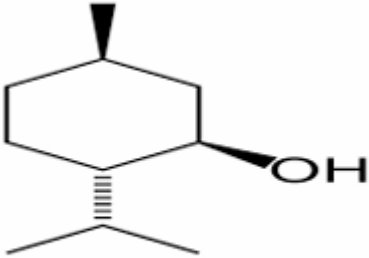
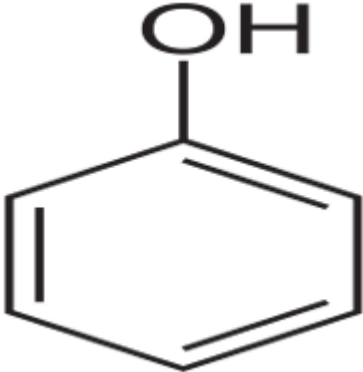
Voici à titre indicatif quelques intervalles d'acceptation relevés des indices de réfractations, pour les huiles essentielles suivantes:

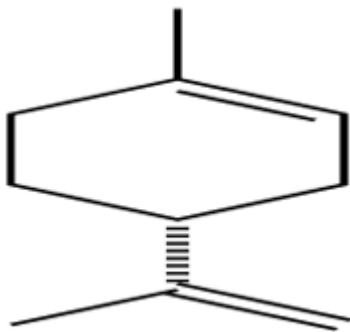
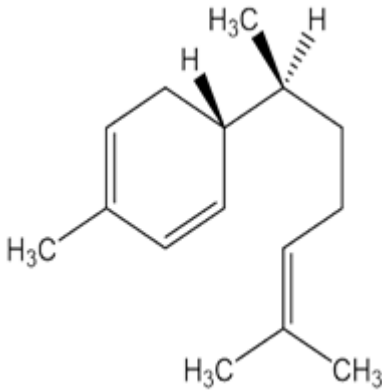
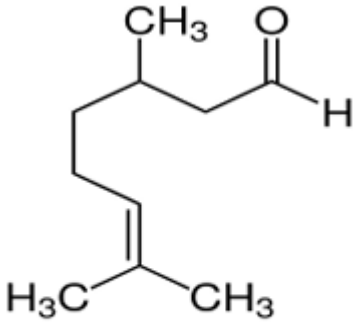
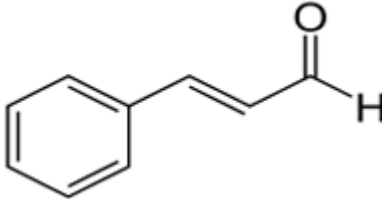
- Menthe poivrée : [1,455 – 1,485] (<https://origine.bio/fr/16708-huile-essentielle-menthe-poivree-1-litre>)
- Épinette noire : [1,467 – 1,472] (<https://www.florilab.fr/pages/26-huile-essentielle-d-epinette-noire>)
- Laurier noble : [1,460 – 1,475] (<https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-laurier-noble/>)

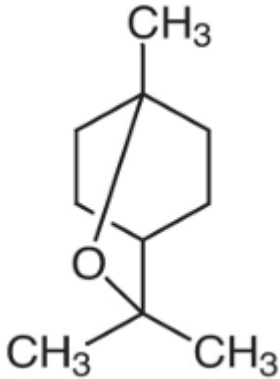
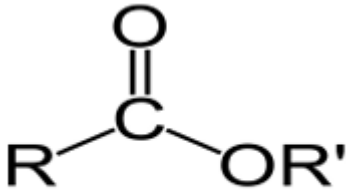
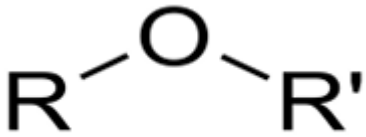
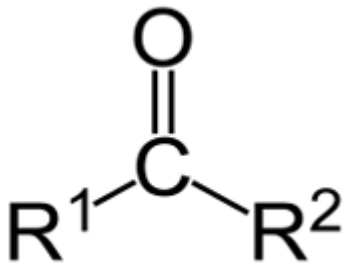
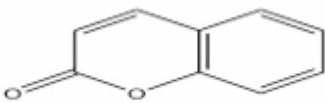
5.5.Composition biochimique des huiles essentielles :

Selon (Franchomme et al, 2001), la composition des HE est très complexe (environ une centaine de molécules), cependant on peut quand même relever plusieurs grandes familles biochimiques. En général on retrouve des composants principaux, qui donnent à l'HE ses propriétés thérapeutiques, et des composés présents en plus faible quantité.

Dans le tableau ci-dessous sont regroupées les familles biochimiques les plus présentes dans les HE, ainsi que leur représentation, leurs principales propriétés.

Famille biochimique	Représentation	Principales propriétés
Alcools monoterpéniques=monoterpénols		<ul style="list-style-type: none"> . Antibactériens . Antifongiques . Antivirales . Antiparasitaires . Antalgiques . Neurotoniques . Immunostimulants <p>Ex :linalol,menthol</p>
Phénols		<ul style="list-style-type: none"> . Antibactériens avec un spectre très large . Antivirales . Antifongiques . Antiparasitaires . Immunostimulants . Antioxydants <p>Ex :thymol,carvacrol,eugénol</p>

<p>Monoterpènes (C10)</p>		<ul style="list-style-type: none"> . Antibactériens . Antivirales . Antifongiques . Décongestionnants des voies respiratoires . Antiseptiques atmosphériques <p>Ex :limonène,pinène,alpha et bêta</p>
<p>Sesquiterpènes (C15)</p>		<ul style="list-style-type: none"> . Mêmes propriétés que les monoterpènes mais présents en plus faible quantité dans les HE <p>Ex :farnésène,zingibérène</p>
<p>Aldéhydes terpéniques</p>		<ul style="list-style-type: none"> . Anti-inflammatoires . Antiseptiques . Antalgiques . Antivirales . Antibactériens . Relaxantes . sédatives . Eueptiques <p>Ex: citronnellal</p>
<p>Aldéhydes aromatiques</p>		<ul style="list-style-type: none"> . Anti-infectieux à large spectre . Immunostimulants <p>Ex: cinnémaldéhyde</p>

<p>Oxydes terpéniques</p>		<ul style="list-style-type: none"> .Puissants expectorants . Décongestionnants respiratoires <ul style="list-style-type: none"> . Antivirales . Antibactériens . Antiparasitaires . Antifongiques <p>Ex: 1,8-cinéole</p>
<p>Esters</p>		<ul style="list-style-type: none"> .Antispasmodiques . Anti-inflammatoires . Antalgiques .Sédatifs <p>Ex : acétate de néryle</p>
<p>Ethers</p>		<ul style="list-style-type: none"> . Antalgiques . Antispasmodiques . Anti-inflammatoires <p>Ex :estragol</p>
<p>Cétones</p>		<ul style="list-style-type: none"> .Mucolytiques .Lipolytiques . Antivirales . Antiparasitaires .Cicatrisantes .Cholérétiques et cholagogues <p>Ex :verbénone,menthone</p>
<p>Coumarines</p>		<ul style="list-style-type: none"> .Présentes en quantité très faible par rapport aux autres composés .Action calmante sur le système nerveux : hypnotique, anticoagulantes

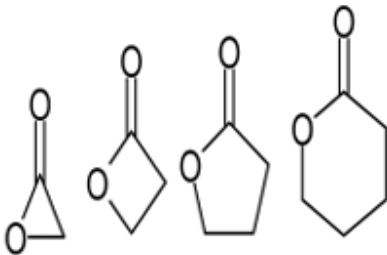
Lactones		<p>.À l'état de traces car très souvent dégradées lors de la distillation</p> <ul style="list-style-type: none"> . Antifongiques . Mucolytiques et expectorantes
----------	---	--

Tableau 01 : Principaux composés biochimiques présents dans les huiles essentielles

6. Présentation des plantes médicinales étudiées :

6.1.Menthe poivrée :

6.1.1. Généralité :

La menthe poivrée (*Mentha piperita L*), Est une plante médicinale qui a reçu plus d'attention des industries alimentaires et pharmaceutiques en raison de ses avantages pour la santé de la société humaine, c'est une plante aromatique pérenne appartenant à la famille des Lamiacées, genre menthe (voir figure 01) , et un hybride naturel entre la menthe verte (*Mentha spicata L*) et la menthe aquatique (*Mentha aquatique L*) symbolisée en latin par le signe «x ». *Mentha piperita* est une plante indigène qui se trouve dans divers pays du monde à la fois cultivée et sauvage, en Europe, en Asie et même en Amérique, et les lieux humides. (Ancuceanu R et al .2017)



Figure 01: Menthe poivrée (<https://soriavie.fr/menthe-poivree-bienfaits>)

6.1.2. Classification taxonomique:

Selon (Hammami.S, Abdesselem M, 2005) il a résumé La classification taxonomique de la menthe poivrée est dans le tableau suivant :

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Gamopétales</i>
Ordre	<i>Sympetales</i>
Famille	<i>Labiées</i>
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha x Piperita L</i>

Tableau 02 : Classification taxonomique de la menthe poivrée

6.1.3. Distribution géographique :

La menthe poivrée est originaire du Moyen-Orient et vraisemblablement d'Asie. En effet, elle se rencontre sur tous les continents et s'adapte à tous les climats hormis les plus extrêmes. Elle aime les terrains frais, argileux et calcaires Cette plante est presque cultivée dans l'ensemble des régions du monde : en Europe, en Asie (Russie, Kirghizstan, Turkménistan, Chine, Japon, Inde), en Australie, en Afrique du Nord (Maroc, Kenya, Tanzanie, Angola) et en Amérique (Canada, États-Unis, Brésil, Argentine, Chili). (Zybak, 2000).

En Algérie :

La menthe poivrée est cultivée en Algérie, où elle est considérée comme une plante indigène. Notamment dans les régions au climat tempéré et humide. On la retrouve principalement dans le nord du pays, comme dans les wilayas de Tizi Ouzou, Béjaïa et Blida, où les conditions climatiques et la richesse du sol favorisent sa culture. Elle est souvent cultivée dans les jardins ou récoltée à l'état semi-sauvage pour ses feuilles riches en huile essentielle aux vertus antibactériennes, antispasmodiques et rafraîchissantes (FAO, 2015).

6.1.4. Principe actifs :

Selon (AMAROUCHE.M, AMOUCHE.F, 2018) les principes actifs de la menthe poivrée sont :

- ❖ **Acide phénolique** : acide rosmarinique et dérivés de l'acide caféique
- ❖ Elle contient une très forte proportion de tanins
- ❖ **Flavonoïdes** : ériocitrine, ériodictyol, diosmétine, menthoside, glycosides de la lutéoline, de l'apigénine)
- ❖ **Des monoterpènes et de triterpènes** : le métabolisme des terpènes est fortement influencé par les facteurs environnementaux.
- ❖ **Huile essentielle** : jusqu'à 4% de la matière sèche.

Comme toutes les plantes, *M. piperita* contient de petites quantités de fer et autres minéraux. Sa teneur en fer des feuilles a été rapportée dans la littérature varie considérablement, de 29,2 à 1154 mg / kg.

6.2.Epinette noire :

6.2.1. Généralité :

L'épinette noire (*Picea mariana*), est un conifère typique des forêts boréales d'Amérique du Nord (voir figure 02), particulièrement répandu au Canada et dans le nord des États-Unis. Elle est appréciée pour sa grande résistance aux climats froids et aux sols pauvres. Son bois est principalement utilisé dans l'industrie du papier, la construction et la fabrication d'instruments de musique. (Lloyd et al, 2007)

Son huile essentielle, extraite de ses aiguilles et rameaux, est reconnue pour ses vertus stimulantes et apaisantes, notamment en aromathérapie. Elle joue également un rôle clé dans l'équilibre écologique des écosystèmes boréaux. (Baskerville.G, taton .T,1964)



Figure 02: Épinette noire (<https://arbrescanada.ca/ressources/arbres-du-canada/epinette-noire-picea-mariana-2/>)

6.2.2. Classification taxonomique :

Selon (LAIRD FARRAR, John, 1996) La classification taxonomique de l'épinette noire est résumée dans le tableau suivant:

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Viridaeplantae</i>
Embranchement	<i>Pinophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Eupinidae</i>
Classe	<i>Pinopsida</i>
Sous-classe	<i>Pinidae</i>
Ordre	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Pinaceae</i>
Genre	<i>Picea</i>
Espèce	<i>Picea mariana</i>

Tableau 03 : Classification taxonomique de l'épinette noire

6.2.3. Distribution géographique :

L'épinette noire (*Picea mariana*) se distribue du nord du Massachusetts jusqu'au Labrador, puis à travers le Canada jusqu'à l'Alaska. Ses limites méridionales incluent des populations isolées dans certaines régions du nord des États-Unis et du sud du Canada. Sa

limite septentrionale correspond généralement à la ligne des arbres, où il alterne avec l'épinette blanche, le mélèze et le peuplier balsamique. (Viereck & Johnston, 1990)

6.2.4. Principes actifs :

Selon (Alteyrac, J., 2005), les principes actifs sont les suivant :

- ❖ **Tanins** : Effet astringent et anti-inflammatoire
- ❖ **Flavonoïdes** : Antioxydants naturels
- ❖ **l'huile essentielle** :
 - **Monoterpènes** : Alpha-pinène, Bêta-pinène, Limonène, Camphène.
 - **Sesquiterpènes** : Delta-3-caréne, Caryophyllène.
 - **Esters** : Acétate de bornyle.

6.3. Laurier noble :

6.3.1. Généralité :

Laurus Nobilis L. Membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces. (Barla *et al.*, 2007) *Laurus* nom latin, d'origine celte qui veut dire " toujours vert " allusion au feuillage persistant de la plante. (Pariente, 2001)

Plutôt rustique puisqu'il résiste à -15C° voire -18C°, le laurier-sauce (voir figure 03) supporte aussi le climat du bord de mer, son tronc a une écorce sombre et ses fleurs d'un blanc teinté de jaune s'épanouissent de Mars à Mai formant des petits bouquets à l'axe des feuilles. Sur cet arbuste dioïque, les fleurs femelles donnent des fruits noirâtres ovotides, de la taille d'une cerise, dont la pulpe verte est grasse. (Pariente, 2001)

Le laurier -sauce sait aussi se rendre utile en cuisine et grâce à ses feuilles très aromatique parfaites en "bouquet garni " pour parfumer les ragouts ou le court-bouillon, Mais ce n'est pas tout, il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle a en fait, des propriétés Médicinales: digestives, antiseptiques, expectorantes, diurétiques, antirhumatisme (Ferreira *et al.*, 2006).



Figure 03: Laurier noble (<https://www.altheaprovence.com/>)

6.3.2. Classification taxonomique :

Selon (Quezel. Pet Santa. S, 1962), La classification taxonomique de laurier noble est résumée dans le tableau suivant :

Règne	Plante
Sous règne	<i>Plantes vasculaires</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Dialypétales</i>
Ordre	<i>Laurales</i>
Famille	<i>Lauracées</i>
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Laurus nobilis L</i>

Tableau 04: Classification taxonomique de laurier noble

6.3.3. Distribution géographique:

Originaire d'Asie mineure d'où il fut importé par les grecs et les romains, le laurier s'est ensuite répandu dans l'ensemble du bassin méditerranéen ainsi qu'en Inde. En France, il pousse à l'état naturel sur le littoral provençal et du Sud-ouest ainsi qu'en Corse. En Europe centrale, il est cultivé dans des bacs car il supporte mal les hivers

froids. Les principaux pays producteurs sont la Turquie, qui produit deux tiers du commerce mondial, l'Albanie, le Maroc ainsi que la Grèce et l'Italie (Geerts *et al.*, 2002).

En Algérie :

En Algérie des arbustes de laurier sont présents dans les forêts d'aulnes réparties dans les zones humides d'Annaba, El Kala et Guerbère Senhadja. Malgré que la phytothérapie est une pratique très ancienne, seul le cité botanique de cette biomasse qui a été largement documenté jusqu'à présent. Ses propriétés biologiques ne le sont que peu (Haddadi .I, 2021)

6.3.4. principes actifs :

Selon (Haddadi .I. 2021) les principes actifs sont les suivant :

- ❖ **Acide phénoliques** : Acide phénylacrylique,
- ❖ **Flavonoïdes** : Principalement la rutine,
- ❖ **Hétérosides de Lignanes**
- ❖ **Alcaloïdes** : Actinodaphonine, isodomesticene,
- ❖ **Lactones Sesquiterpénique** : La déhydrocostuslactone, artémoreine,

7. Agents gélifiants

7.1. Gomme xanthane :

La gomme xanthane est un bio polysaccharide anionique naturel. Elle est soluble dans l'eau mais pas dans les solvants organiques. C'est une particule colloïdale rigide qui adopte une structure double hélicoïdale cylindrique à l'état natif (température ambiante (25°C) et faible force ionique), la distribution de son poids moléculaire varie de $2 \cdot 10^4$ à $20 \cdot 10^6$ Da (VUE, F. D. U. B. E. 2022).

Il est utilisé comme épaississant dans l'agroalimentaire sous la dénomination E 415 (assaisonnements, sauces, crèmes, glaces). En cosmétique, il est présent dans les gels, les dentifrices, ou les crèmes (Rouy, E. 2003).

7.2. Agar-agar :

L'agar-agar est un gélifiant naturel, Il est extrait d'Algues Rouges (variété d'algues marines) du type Gelidium, Java, Euchema, Gracilaria ou Hypnea. (Boscus, J. 2005).

Il se présente, après séchage des algues et extraction, sous forme de filaments jaunâtres et translucides ou sous forme de poudre blanche. Insoluble dans l'eau froide mais soluble dans l'eau bouillante, cette substance donne en refroidissant un gel consistant (Boscus, J. 2005).

L'agar-agar est formé de deux polymères qui peuvent être fractionnés : l'agarose (à l'origine de la gélification) et l'agaropectine. (Boscus, J. 2005).

1. Mode d'action des huiles essentielles

Selon (Toure, D. 2015) le mode action des huiles essentielles résumé dans les points suivants :

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire.

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton et la coagulation du contenu protéique des cellules.

Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides.

Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes: en général, les bactéries Gram à négatif sont plus résistantes que les Gram à positif grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram à négatif est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux de Gram positif qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer.

2. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha piperita* L)

L'huile essentielle de menthe poivrée possède une activité antimicrobienne notable. Elle agit de manière plus marquée contre les micro-organismes pathogènes pour les plantes, tandis que son effet sur les agents pathogènes humains reste modéré. Le menthol, qui constitue le principal composant de cette huile, est reconnu pour être à l'origine de cette activité. (Iscan et al, 2002)

Elle montre une efficacité antibactérienne importante, notamment contre certaines souches d'*Escherichia coli*, et présente également une activité fongistatique et fongicide. (Mimica-Dukic et al, 2003)

Son pouvoir antimicrobien s'étend également à des microorganismes tels que *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, ce qui lui confère un potentiel intéressant en tant qu'agent naturel contre différents types d'agents infectieux. (Yadegarinia et al, 2006)

3. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de l'épinette noire (*Picea mariana*):

Plusieurs études ont démontré que *Picea mariana* possède une activité antimicrobienne significative, principalement attribuée à ses métabolites secondaires tels que les monoterpènes, les polyphénols, les flavonoïdes et les acides phénoliques présents dans son huile essentielle (par exemple extraits d'écorce et d'aiguilles ont montré une inhibition notable contre des bactéries gram positives (*Staphylococcus aureus*) et gram négatives (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) variant selon le mode d'extraction.

L'huile essentielle, riche en pinène, en limonène et en bornéol, présente également une action antibactérienne et antifongique, perturbant la membrane cellulaire microbienne et inhibant la croissance bactérienne. Ces propriétés suggèrent un potentiel pour des applications en phytothérapie.

4. Activité antimicrobienne d'huile essentielle de laurier noble (*Laurus Nobilis L*)

Les huiles essentielles de laurier sont reconnues pour leur activité antimicrobienne contre un large panel de bactéries pathogènes et d'altération d'origine alimentaire testées et activités fongiques, antivirales et antibiofilms (Merghni et al., 2016 ; Chmit et al., 2014).

Des études ont été réalisées pour évaluer les activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Laurus nobilis*. Ils rapportent que cette huile essentielle a démontré une forte activité sur la majorité des 22 souches ; la sensibilité la plus élevée était dans les espèces des Enterobacter. La souche la plus résistante était *P. aeruginosa*. Ils ont également signalé que 1,8-cinéole avait un rôle dans cette activité ayant une activité antimicrobienne contre *E. coli*, *P. aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Ouibrahim et al., 2013).

1. *Escherichia coli* :

1.1.Habitat :

E.coli est une bactérie commensale du tractus digestif des humains et des animaux à sang chaud, où elle trouve des conditions optimales de développement, notamment au niveau du côlon et du cæcum. (Gordon et al, 2003). Une fois excrétée dans l'environnement via les fèces, elle entre dans un habitat secondaire souvent défavorable à sa survie en raison de facteurs biotiques et abiotiques. Dans de telles conditions, *E.coli* peut adopter un état viable mais non cultivable (VBNC), maintenant une activité métabolique minimale jusqu'au retour de conditions favorables à sa prolifération. (Smati et al, 2015)

1.2.Taxonomie :

Selon (Castellani A et al, 1894), la classification taxonomique de l'*E.coli* est représentée dans le tableau suivant :

Domaine	<i>Bactéries</i>
Régne	<i>Eubactéries</i>
Embranchement	<i>Protéobactéries</i>
Classe	<i>Gammaprotéobactéries</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>E.coli</i>

Tableau 05: Taxonomie d'*Escherichia coli*

1.3.Caractères morphologiques

E.coli est une bactérie bacillaire, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et classée parmi les coliformes. Elle est à Gram négatif, caractérisée par une paroi cellulaire mince et une membrane externe contenant des lipopolysaccharides, elle est mobile grâce à des flagelles péritriches. (Dromigny E, 2011) (voir figure 04). Elle ne forme pas de spores et présente une taille variant entre 2 et 6 µm de long pour environ 0,8 µm de large.

Sa morphologie et sa structure lui permettent une bonne adaptation tant au milieu intestinal qu'à l'environnement extérieur. (Percival. SL, 2004)

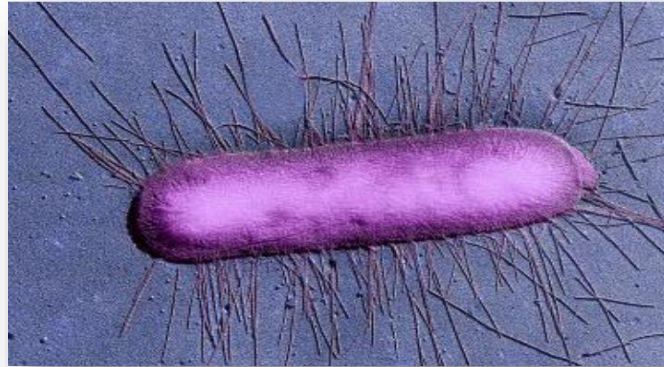


Figure 04 : *E.coli* en microscopie électronique à balayage (<https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/escherichia-coli>)

1.4.Caractères culturaux :

E.coli est une bactérie aéro-anaérobie facultative, ce qui lui confère une grande capacité d'adaptation. Elle se cultive facilement sur des milieux usuels enrichis en lactose, sur des milieux solides comme la gélose nutritive ou au lactose, incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures, elle forme des colonies rondes, lisses, grisâtres, de 2 à 3 mm de diamètre (voir figure 05). Elle est également capable de croître sur des milieux sélectifs pour entérobactéries, tels que MacConkey et Drigalski. (Avril J-L et al, 1992)



Figure 05 : Photo réelle d'*E.coli* ATCC 25922 sur gélose nutritive

1.5. Pouvoir pathogène :

Les souches pathogènes d'*E.coli* sont capables de se multiplier et de persister dans le tractus digestif de l'hôte en contournant les défenses immunitaires, tout en induisant des dommages cellulaires. (Dobrindt et al, 2005)

L'étude des différents modes d'interaction entre l'hôte et la bactérie a permis de regrouper ces souches en deux principaux pathotypes :

- Les pathogènes extra-intestinaux (ExPEC) : responsables d'infections urinaires, de méningites chez les nouveau-nés et de septicémies.
- Les pathogènes intestinaux (InPEC) : impliqués dans les maladies entériques. (Müller et al, 2007)

2. *Staphylococcus aureus* :

2.1. Habitat :

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhino-pharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, volailles) et en particulier chez l'homme. Ils sont également isolés de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air) et de l'environnement hospitalier (Hennekinne, 2009).

L'habitat naturel de *Staphylococcus aureus* est l'épithélium squameux humide des narines antérieures. Environ 20% de la population humaine sont porteurs de *S. aureus* en permanence dans leur nez et 60% des individus sont des porteurs intermittents (Rebecca et al., 2009).

2.2. Taxonomie :

Selon (Witham, 2009 ; Wattam et al., 2014), la taxonomie de *Staphylococcus aureus* est représentée dans le tableau suivant :

Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillaceae</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>

Espèce	<i>Aureus</i>
--------	---------------

Tableau 06: Taxonomie de *Staphylococcus aureus*

2.3.Caractères morphologiques :

S. aureus est de forme sphérique (coque) (voir figure 06) à Gram positif, d'un diamètre allant de 0,5 à 1,5µm, anaérobies, non génératrices de spores, non mobile et se regroupe généralement en amas, souvent qualifiés de grappes de raisin d'un point de vue macroscopique, cette bactérie se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies, justifiant le nom vernaculaire de staphylocoque doré (**Le Loir et Gautier, 2010**). *Staphylococcus aureus* est répandu dans les aliments d'origine animale, particulièrement dans les produits de viande de poulet cru, en raison de l'exposition directe et de la contamination croisée aux stades de l'élevage, de l'abattage et de la transformation, du transport, de l'entreposage et de la commercialisation (**Wang et al., 2017**).

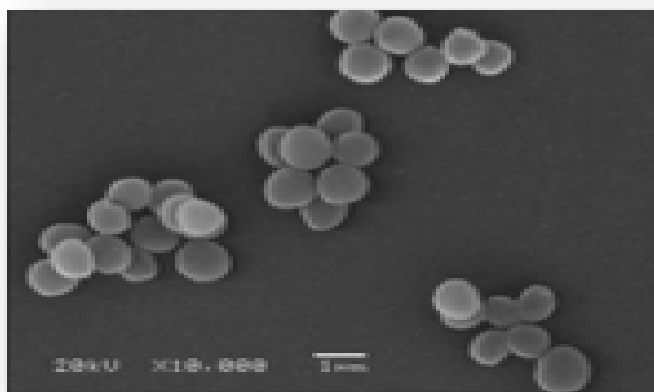


Figure 06: *Staphylococcus aureus* en microscopie électronique à balayage (**Zhang et al., 2013**).

2.4.Caractères cultureux :

Les souches de *S. aureus* ont un pouvoir de résistance dans les milieux hostiles, elles ont la capacité de pousser à des températures allant de 7°C jusqu'à 48°C, avec un optimum de croissance de 37 °C et une salinité de 75% et à un pH allant de 4 jusqu'à 10 (**Grace and Fetsch, 2018**) (voir figure 07). Elles font partie des bactéries non exigeantes, sont cultivées dans des milieux ordinaires et dans des milieux sélectifs tel que le milieu Chapman ou le Baird Parker. Ses colonies sur gélose ordinaire sont lisses, rondes, arrondies, bombés de couleur jaune dorée à jaune orange. En Bouillon, la culture de *S.*

aureus forme un trouble uniforme abondant ; parfois un dépôt et un voile en surface (**Le Loir et Gautier, 2010**).

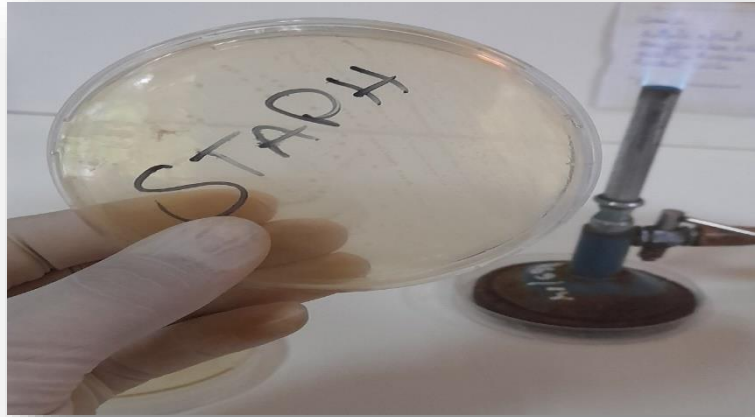


Figure 07: Photo réelle de *S aureus*, sur gélouse nutritive

2.5.Pouvoir pathogène :

S. aureus est le pathogène le plus problématique du genre Staphylococcus, il est responsable d'un large spectre d'infections aiguës et chroniques (**Tong et al., 2015**).

Le pouvoir pathogène de *S. aureus* résulte de la sécrétion d'enzymes au large panel d'actions, avec notamment des enzymes capables de détruire les tissus (exemples : hyaluronidases, lipases, protéases) mais aussi de multiples toxines (leucocidines, hémolysines, exfoliatines). (**Le Loir et al., 2010**).

S. aureus est le pathogène le plus couramment impliqué dans les infections de la peau dans le monde. Les infections cutanées sont dues à l'entrée de ce pathogène (souvent via un tissu traumatisé ou une blessure) et sa multiplication provoque diverses manifestations cutanées comme des furoncles, des impétigos ou encore des abcès (**Giudice, 2020**).

3. Pseudomonas aeruginosa :

3.1.Habitat :

C'est une bactérie qui vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide, cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux. (**Avril et al., 1992**).

Les bacilles sont largement répandus dans le sol, l'eau, les eaux d'égouts et l'air. *Pseudomonas aeruginosa* fait souvent partie de la flore normale, en nombre réduit. On la retrouve aussi sur la peau humaine (Jawetz et al., 1973 ; Nauciel, 2001).

En milieu hospitalier, *P. aeruginosa* est parfois présent dans les solutions aseptiques et sur les instruments tels que les cathéters, les sondes, ou encore dans les canalisations et les lavabos

3.2.Taxonomie :

Selon (BENABID, 2009) La taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* est représentée dans le tableau suivant :

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Prokaryota</i>
Division	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Aeruginosa</i>

Tableau 07: Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa*

3.3.Caractères morphologiques :

Ce sont des bacilles Gram négatif de 1 à 3 µm de long et 0.5 à 1 µm de large , mobiles grâce aux flagelles, parfois entourés d'une pseudo-capsule appelée slime. Elles produisent des pigments hydrosolubles se diffusant dans le milieu (Avril et al., 1992) (Voir figure 08).

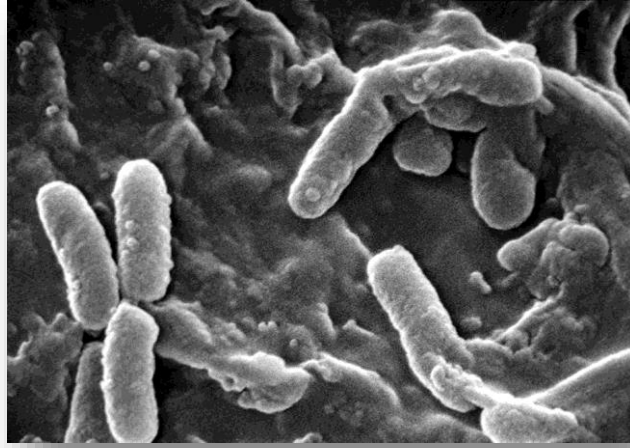


Figure 08: *Pseudomonas aeruginosa* en microscope électronique à balayage
(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas_aeruginosa_SEM.jpg)

3.4. Caractères cultureux :

Les *Pseudomonodaceae* peuvent être cultivés facilement sur tous les milieux à 37°C ou 30°C (Avril et al., 1992) (voir figure 09).

Elle peut croître entre 5 et 42°C avec un optimum de 30 °C. Par contre, elle supporte de moindres variations de pH (6,5 à 7,5) avec un pH optimal de 7,2 (Barir O et Ghilani M , 2011)

Ils constituent le modèle des bactéries aérobies strictes, c'est-à-dire à métabolisme strictement respiratoire, dépourvues de métabolisme fermentatif des glucides. (Meyer et al., 2004).

Il ne fermente pas le lactose et forme des colonies lisses et arrondies, légèrement bombées avec un bord circulaire régulier, de couleur fluorescente verdâtre et d'odeur aromatique douceâtre.

Parmi les pigments produits par la *P. aeruginosa*, il y a la pyocyanine, et la fluorescéine (Jawetz et al., 1973).



Figure 09: Photo réelle de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1117, sur gélose nutritive

3.5.Pouvoir pathogène :

Selon (Jawetz et al., 1973 et Nauciel, 2001). *P. aeruginosa* n'est pathogène que lorsqu'elle s'introduit dans des zones dépourvues de défenses normales.

- Elle infecte des plaies, produisant du pus bleu vert.
- Cause la méningite lorsqu'elle est introduite par ponction lombaire.
- Cause des infections urinaires lorsqu'elle est introduite par des solutions d'irrigation.
- Elle provoque des infections oculaires (endophtalmie).

P. aeruginosa résiste à la plupart des agents antimicrobiens.



Matériel et méthodes

1. Site d'accueil de l'étude expérimentale

Notre étude expérimentale a été menée au sein du **laboratoire de microbiologie** de l'Université 20 Août 1955 de Skikda. Ce laboratoire est doté des équipements nécessaires pour la manipulation et l'analyse microbiologique des échantillons, ainsi que pour la réalisation des techniques biochimiques courantes. L'étude s'est déroulée sur une période de **trente (30) jours consécutifs**, durant laquelle les différentes étapes expérimentales ont été rigoureusement planifiées et exécutées conformément aux protocoles scientifiques standards.

2. Matériel

2.1. Matériel Biologique

2.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué d'huiles essentielles extraites de trois plantes médicinales : la menthe poivrée (*Mentha piperita* L.), l'épinette noire (*Picea mariana*), et le laurier noble (*Laurus nobilis* L.). Ces huiles essentielles ont été obtenues sous forme commerciale auprès des fournisseurs **My Dz' Essential**

2.1.2. Souches bactériennes utilisées

Dans le cadre de cette étude, trois souches bactériennes ont été utilisées : deux souches de référence appartenant à la collection américaine ATCC (American Type Culture Collection) (voir figure 10) et une souche clinique isolée localement (voir figure 11). Ces souches ont été gracieusement fournies par le laboratoire d'hygiène de l'établissement public de santé de proximité de Skikda. Elles constituent des modèles microbiologiques pertinents pour évaluer le potentiel antibactérien de substances naturelles ou synthétiques.

Les informations détaillées relatives aux souches ATCC sont présentées dans le tableau ci-dessous :

N° ATCC	Espèce bactérienne	Type de Gram	Famille
25922	<i>Escherichia coli</i>	Bactérie à Gram négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>
1117	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie à Gram négatif	<i>Pseudomonadaceae</i>

Tableau 08: Caractéristiques des souches bactériennes de référence issues de l'ATCC

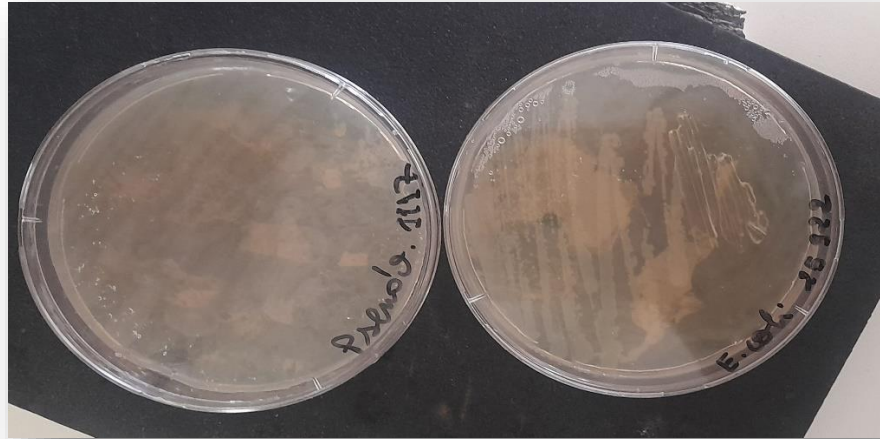


Figure 10 : Souches des références d'ATCC

La souche clinique, quant à elle, a été isolée à partir d'un cas de toxication alimentaire et est décrite dans le tableau suivant :

Souche bactérienne	Famille	Lieu d'isolement	Date d'isolement	Origine clinique
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	Laboratoire d'hygiène – EPSP de Skikda	25/04/2025	Échantillon issu d'un cas de toxication alimentaire

Tableau 09 : Origine et caractéristiques de la souche bactérienne clinique isolée

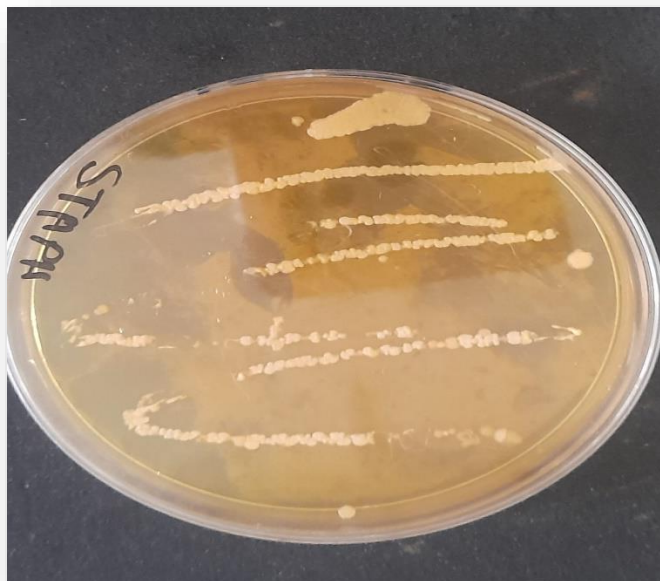


Figure 11: Souche bactérienne clinique.

L'utilisation conjointe de souches de référence standardisées et de souches cliniques confère à cette étude un double intérêt : une validation expérimentale rigoureuse et une pertinence clinique accrue.

Afin de garantir des conditions de culture optimales pour les souches bactériennes sélectionnées, plusieurs milieux de culture standards ont été utilisés au cours de cette étude :

- **Gélose nutritive (GN)** : Il s'agit d'un milieu non sélectif couramment utilisé pour l'isolement et le repiquage des bactéries. Il permet la croissance de nombreuses espèces bactériennes, facilitant ainsi la préparation des cultures pour les essais microbiologiques (Madigan, M. T., et al, 1997).
- **Mueller-Hinton (MH)** : Ce milieu est reconnu comme le **milieu de référence pour les tests de sensibilité aux antibiotiques** selon les recommandations du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Il a été utilisé dans cette étude pour évaluer l'effet antibactérien des substances testées (Wayne, P. A. 2011).
- **Bouillon nutritif** : Il s'agit d'un milieu liquide utilisé pour la **préculture et l'enrichissement bactérien**, notamment en vue de standardiser la densité bactérienne avant les essais (Cappuccino, J. G., & Sherman, N. 2013).

Matériel et méthodes

Ces milieux ont été préparés et stérilisés selon les normes microbiologiques en vigueur, afin de garantir la reproductibilité et la fiabilité des résultats obtenus.

2.2. Matériel non Biologique

Le tableau ci-dessous présente l'ensemble du matériel non biologique utilisé dans le cadre de ce travail, incluant les équipements, la verrerie de laboratoire, ainsi que les réactifs chimiques nécessaires aux différentes étapes expérimentales

Petits matériels	Appareils	Réactifs et produits chimiques
- Bêchers	- Autoclave	- Eau distillé stérile
- Eprouvette 100ml	- Bain marie	- Eau physiologique
- Tubes à vis stérile	- L'étuve	- Ethanol
- Boîtes de pétris	- Balance de	- Milieux de culture
- Bec bunsen	précision	- Violet de gentiane
- Micropipettes	- Agitateur	- Lugol
- Pipettes pasteures	magnétique	- Fuschine
- Ecouvillon	- Réfrigérateur	- Huile d'immersion
- Lames et lamelles	- vortex	
- Pince	- Microscope	
- Spatule	optique	
- Flacon en verre	- Refractomètre	
ambré	- Compteur manuel	
- Porte tub	des colonies	
- Pipete compte		
- gouttes stérile		

Tableau 10: Liste du matériel utilisé dans cette étude

2.2.1. Agents gélifiants

Deux agents gélifiants ont été sélectionnés pour la formulation : la gomme xanthane, acquise via le site **matiere-premiere-bougies-alma**, et l'agar-agar. Ces polymères naturels ont été choisis pour leurs propriétés rhéologiques et leur compatibilité avec des matrices bioactives.

3. Méthodes expérimentales

3.1. Préparation de gels antibactériens à base d'huiles essentielles

Dans le cadre de cette étude, deux protocoles ont été mis en œuvre pour la formulation de gels antibactériens à base d'huiles essentielles, en utilisant respectivement la **gomme xanthane** (voir figure 12) et **l'agar-agar** (voir figure 13) comme agents gélifiants. Ces formulations ont été conçues de manière à assurer à la fois la stabilité physico-chimique du gel et l'intégrité biologique des principes actifs.

A. Formulation n°1 : Gel à base de gomme xanthane

1. Préparation de la phase aqueuse:

Une solution aqueuse a été préparée en incorporant progressivement **1 g de gomme xanthane** dans **85 mL d'eau distillée** à température ambiante ($\leq 40^\circ\text{C}$), sous agitation vigoureuse à l'aide d'un agitateur magnétique. La solution a été laissée au repos pendant **10 à 15 minutes** afin de permettre l'hydratation complète du polymère et la formation d'un gel homogène.

2. Préparation de la phase huileuse:

Dans un bécher stérile, **7 g de glycérine végétale** ont été mélangés à **30 gouttes d'huile essentielle** (épinette noire, laurier noble ou menthe poivrée) jusqu'à obtention d'un mélange homogène.

3. Émulsification:

La phase huileuse a été incorporée progressivement à la phase aqueuse sous **agitation continue**, jusqu'à obtention d'une texture lisse et uniforme.

4. Ajout du conservateur:

Un conservateur, **Cosgard**, a été ajouté à raison de **10 gouttes**. Le mélange final a été soigneusement homogénéisé.

5. Conditionnement:

Matériel et méthodes

Le gel obtenu a été transféré dans des **flacons préalablement stérilisés** (par autoclavage ou ébullition), puis laissé au **repos pendant 24 heures à température ambiante**, afin d'assurer la stabilisation de la formulation.

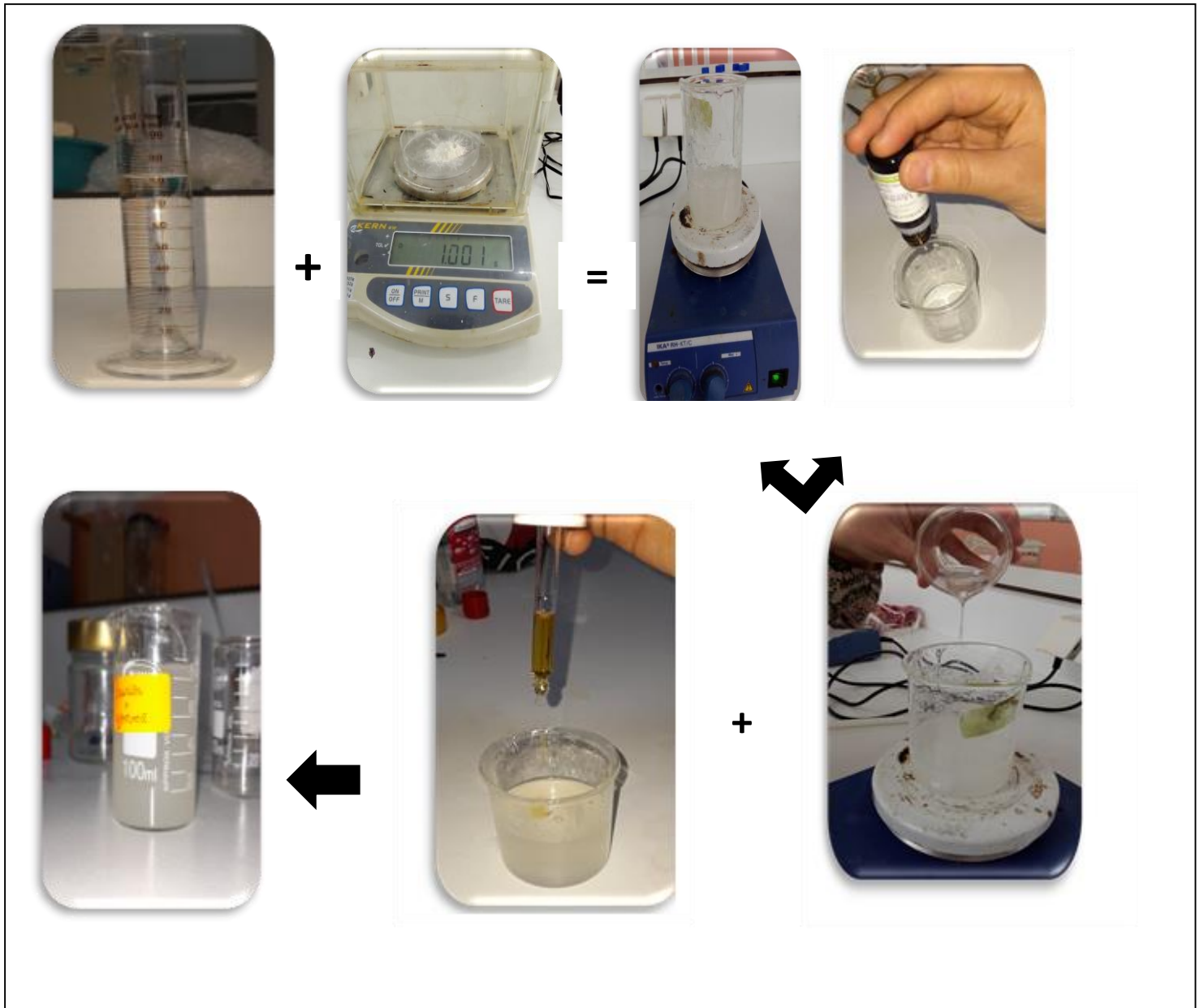


Figure 12: Préparation d'un gel antibactérien par la gomme xanthane

B. Formulation n°2 : Gel à base d'agar-agar

1. Préparation de la phase aqueuse:

Une quantité de **0,5 g d'agar-agar** a été dissoute dans **95 mL d'eau distillée**. Le mélange a été porté à ébullition pendant **1 à 2 minutes** tout en fouettant pour assurer une dissolution complète et homogène. La solution a ensuite été laissée à tiédir jusqu'à une température d'environ **40 °C**, afin d'éviter la dégradation thermique des huiles essentielles lors de leur incorporation.

2. Préparation de la phase huileuse:

Similairement à la première méthode, **6 g de glycérine végétale** ont été mélangés à **30 gouttes d'huile essentielle** (au choix parmi les trois mentionnées précédemment), jusqu'à obtention d'une émulsion homogène.

3. Émulsification:

Une fois la phase aqueuse refroidie, la phase huileuse a été incorporée lentement sous **agitation continue**, jusqu'à obtention d'un gel homogène.

4. Ajout du conservateur:

12 gouttes de Cosgard ont été ajoutées en phase finale, avec une agitation douce pour homogénéiser l'ensemble. La texture a été ajustée si nécessaire.

5. Conditionnement:

Le gel a été conditionné dans des **flacons stérilisés**, puis laissé à **température ambiante pendant 24 heures** afin de permettre la stabilisation physico-chimique avant toute utilisation ou test microbiologique.

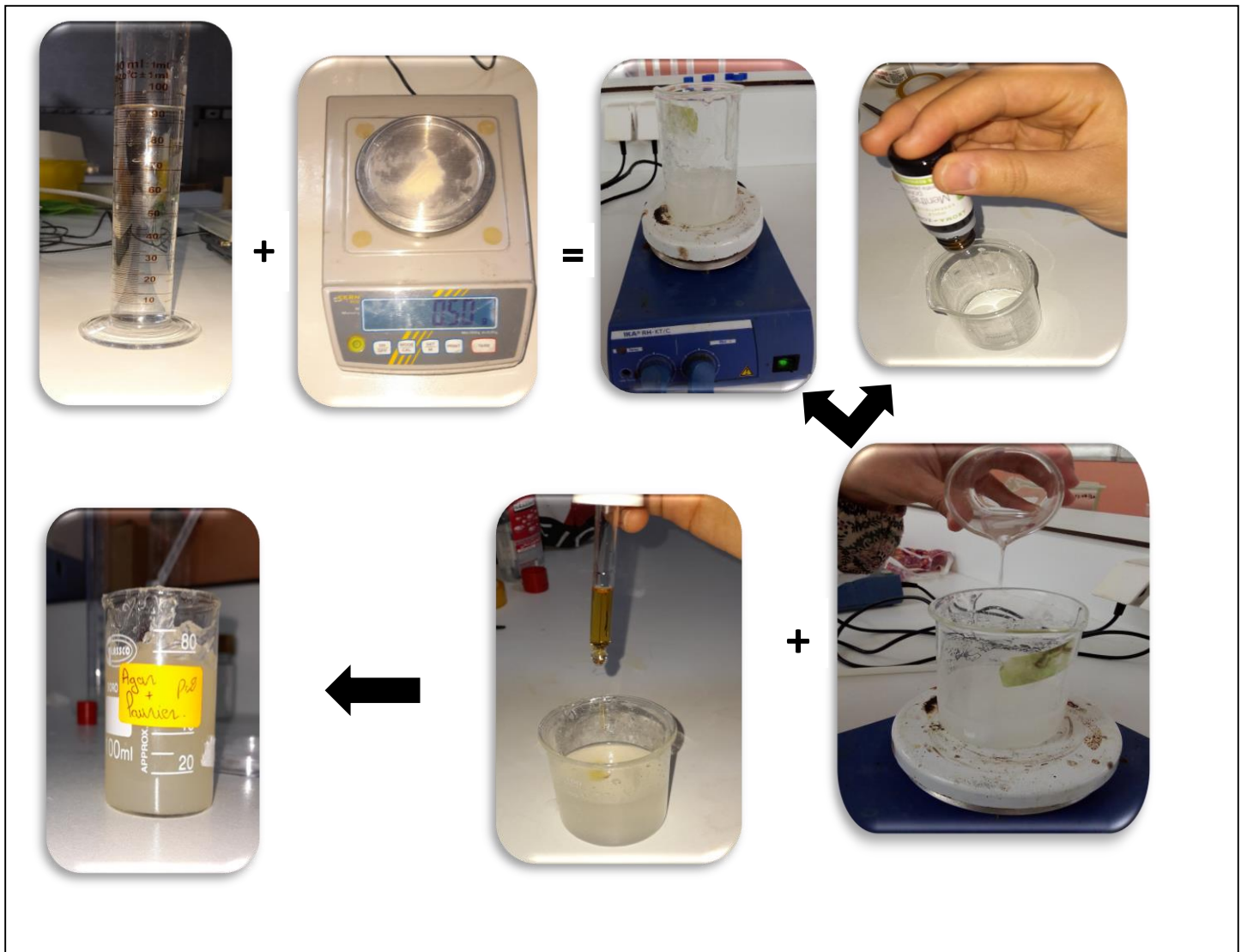


Figure 13 : Préparation d'un gel antibactérienne par l'agar-agar

3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

3.2.1. Repiquage des souches bactériennes :

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées dans des boîtes de pétris contenant le GN par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies jeunes isolées (moins de 24 heures) qui vont servir à la préparation de l'inoculum (voir figure 14).



Figure 14 : Souches bactériennes repiquées

3.2.2. Préparation de la suspension bactérienne :

Dans notre travail, nous avons préparé quatre suspensions bactériennes à partir de colonies fraîches isolées sur gélose. Pour chaque souche bactérienne étudiée, nous avons utilisé quatre tubes à essai contenant chacun 10 ml de bouillon nutritif. Ensuite nous avons introduit différentes quantités de biomasse bactérienne comme suit :

- ✓ Le premier tube a reçu une demi-colonie.
- ✓ Le deuxième tube, une colonie entière.
- ✓ Le troisième tube, deux colonies.
- ✓ Et le quatrième, trois colonies.

Après avoir homogénéisé les suspensions par agitation à l'aide de vortex, nous les avons incubées à 37 °C pendant 2 heures afin de permettre une activation cellulaire. (voir figures 15, 16, 17).

Par la suite, nous avons mesuré la densité optique (DO) de chaque suspension à l'aide d'un spectrophotomètre à 600 nm, dans le but de sélectionner la suspension dont la concentration cellulaire est la plus proche du standard de McFarland 0,5, utilisé comme référence pour les tests d'efficacité antibactérienne.

▪ Escherichia Coli :

N° de tube	DO
0 (0 C)	0.0000
1 (1C)	0.0877
2 (2C)	0.2877
3 (3C)	0.3511
4 (0,5C)	0.1353

Tableau 11 : Densité optique d'*Escherichia coli*



Figure 15 : Suspensions bactériennes d'*Escherichia coli*

▪ Pseudomonas aeruginosa :

N° de tube	DO
0 (0 C)	0.0000
1 (1C)	0.0767
2 (2C)	0.1186
3 (3C)	0.0880
4 (0,5C)	0.0325

Tableau 12: Densité optique de *Pseudomonas aeruginosa*

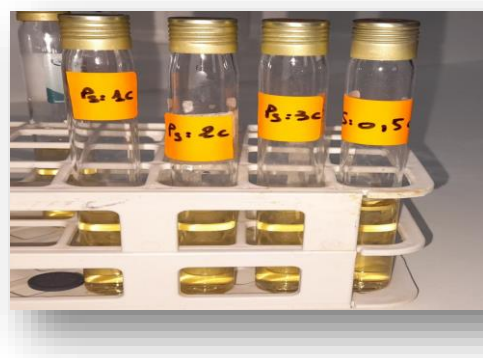


Figure 16 : Suspensions bactériennes de *Pseudomonas aeruginosa*

▪ Staphylococcus aureus :

N° de tube	DO
0 (0 C)	0.0000
1 (1C)	0.3172
2 (2C)	0.2933
3 (3C)	0.1847
4 (0,5C)	0.0483

Tableau 13: Densité optique de *Staphylococcus aureus*



Figure 17 : Suspensions bactériennes de *Staphylococcus aureus*

3.2.3. Ensemencement et dénombrement des colonies

À la suite de la préparation des suspensions bactériennes, nous avons procédé à l'ensemencement d'une goutte (0,05 ml) de chaque suspension sur GN à l'aide de la technique du strié en quadrants. Cette méthode permet une bonne répartition des bactéries et favorise l'obtention de colonies isolées.

Les boîtes ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24 h (voir figures 18, 19, 20).



Figure 18 :
Ensemencement
de *S. aureus*



Figure 19 :
Ensemencement
d'*E. coli*



Figure 20:
Ensemencement
de *P. aeruginosa*

Après la période d'incubation, nous avons observé la croissance bactérienne et effectué le dénombrement des colonies isolées à l'aide d'un compteur manuel de colonies (voir figure 21). Cette étape nous a permis d'évaluer la viabilité et la densité bactérienne de chaque suspension préparée.



Figure 21 : Dénombrement des colonies
isolées (UFC/0,05ml) par le compteur de
colonies

3.2.4. Établissement des courbes d'étalonnage et détermination de la densité optique cible :

Après le dénombrement des colonies issues de chaque suspension bactérienne, nous avons tracé une courbe d'étalonnage pour chaque souche (voir figures 22, 23, 24). Ces courbes ont été obtenues en représentant la densité optique (mesurée au spectrophotomètre à 600 nm) en fonction du nombre de colonies (UFC/mL).

Escherichia Coli :

N° de tube	DO	UFC/0,05 ml	UFC /ml
0 (0 C)	0.0000	0	0
1 (1C)	0.0877	41	820
2 (2C)	0.2877	169	3380
3 (3C)	0.3511	194	3880
4 (0,5C)	0.1353	106	2120

Tableau 14 : Dénombrement des colonies isolées d'*Escherichia coli* (UFC/1ml)

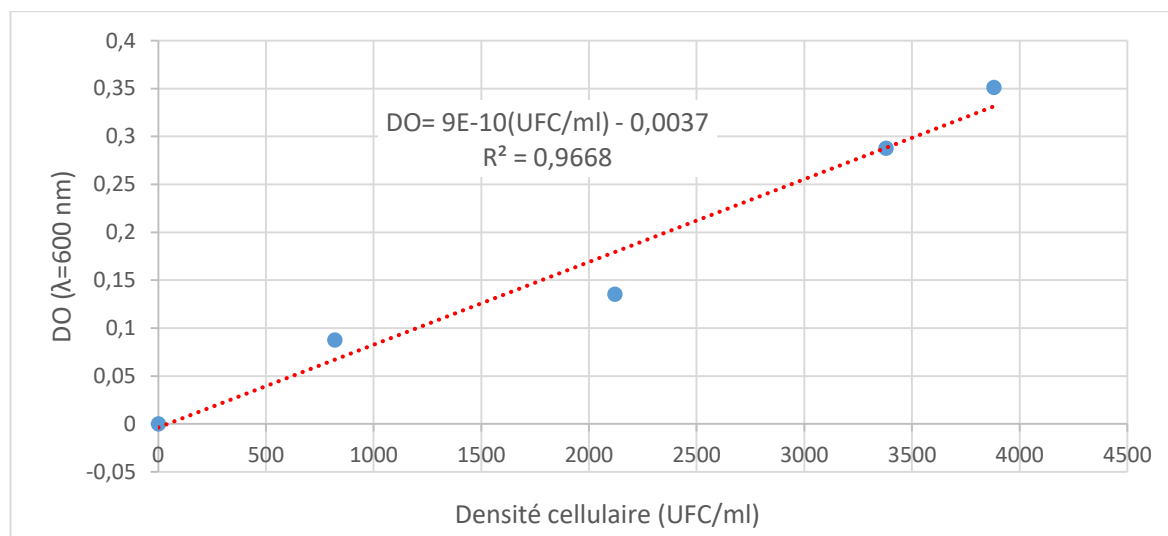


Figure 22 : Courbe d'étalonnage et l'équation de régression d'*Escherichia coli*

Pseudomonas aeruginosa :

N° de tube	DO	UFC/0.05 ml	UFC /1ml
0 (0 C)	0.0000	0	0
1 (1C)	0.0767	141	2620
2 (2C)	0.1186	118	2360
3 (3C)	0.0880	127	2540
4 (0,5C)	0.0325	82	1640

Tableau 15: Dénombrement des colonies isolées de *Pseudomonas aeruginosa* (UFC/1ml)

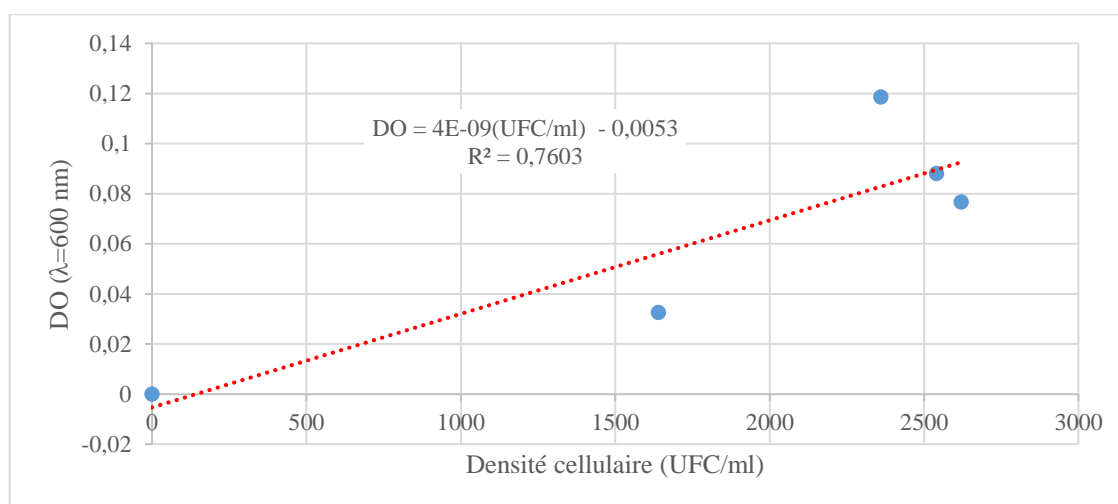


Figure 23: Courbe d'étalonnage et l'équation de régression de *Pseudomonas aeruginosa*

Staphylococcus aureus :

N° de tube	DO	UFC/0.05 ml	UFC /1ml
0 (0 C)	0.0000	0	0
1 (1C)	0.3172	243	4860
2 (2C)	0.2933	228	4560
3 (3C)	0.1847	215	4300
4 (0,5C)	0.0483	101	2020

Tableau 16: Dénombrement des colonies isolées de *Staphylococcus aureus* (UFC/1ml)

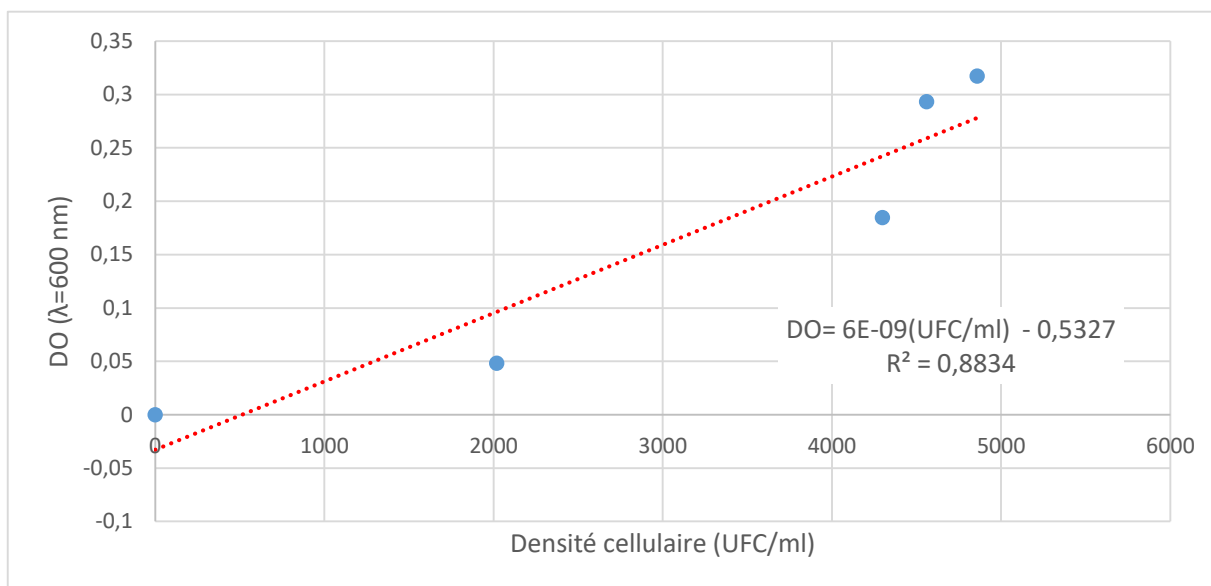


Figure 24: Courbe d'étalonnage et l'équation de régression de *Staphylococcus aureus*

Grâce à l'équation de chaque courbe, nous avons pu déterminer la valeur de la densité optique correspondant à une concentration standardisée, équivalente à 0,5 sur l'échelle de McFarland ($\sim 1.5 \times 10^8$ UFC/mL). Cette densité optique cible a ensuite été utilisée pour ajuster les suspensions bactériennes destinées aux tests d'efficacité antibactérienne de nos gels.

Souche	DO
<i>E coli</i>	0,13
<i>P aeruginosa</i>	0,59
<i>S. aureus</i>	0,36

Tableau 17: Densité optique de chaque souche bactérienne équivalente à 0,5 sur l'échelle de McFarland ($\sim 1.5 \times 10^8$ UFC/mL).

3.2.5. Préparation et ensemencement pour le test d'efficacité antibactérienne

Après avoir déterminé la densité optique adéquate correspondant à l'échelle de McFarland pour chaque souche bactérienne, nous avons préparé de nouvelles suspensions bactériennes dans une solution physiologique stérile à l'aide d'un écouvillon, de manière à atteindre les valeurs cibles précédemment établies (voir figure 25).

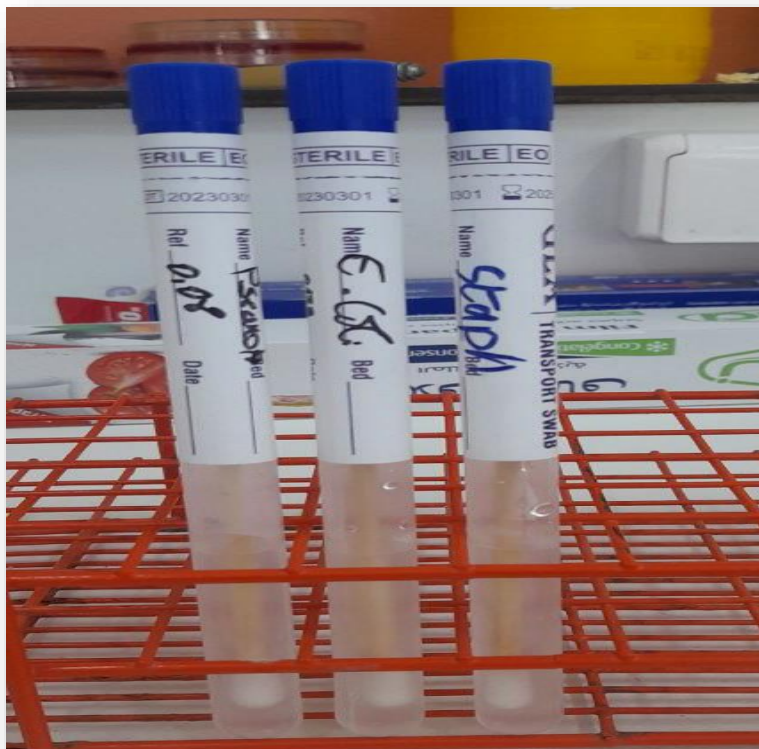


Figure 25: Suspensions des souches bactériennes *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* dans des écouvillons stériles

Ensuite, nous avons procédé à l'ensemencement des milieux de culture Mueller-Hinton (MH) en utilisant la méthode des stries croisées (ou stries en quadrillage), assurant une répartition homogène des bactéries sur toute la surface de la boîte de Pétri.

Selon (Balouiri, M. et al, 2016), pour tester l'activité antibactérienne d'un gel, la méthode la plus adaptée est la méthode de diffusion en puits.

À l'aide d'un embout stérile, cinq puits ont été réalisés dans chaque boîte de Pétri. Chacun de ces puits a été rempli avec un volume de 100 μ L des solutions suivantes :

- Deux témoins positifs : le chloroxidine et l'ampicilline
- Un témoin négatif : généralement une solution neutre (base du gel sans huile essentielle).
- Notre gel antibactérien formulé à base de gomme xanthane.
- Notre gel antibactérien formulé à base d'agar-agar.

Après remplissage, les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. L'efficacité antibactérienne a été évaluée par observation et mesure des diamètres des zones d'inhibition formées autour de chaque puits.

4. Identification microscopique des bactéries

Selon (Chaouch Amira et al., 2023), l'examen microscopique est le premier stade de la détermination des bactéries. Il est cependant indispensable pour orienter les recherches ultérieures : culture et isolement, mise en évidence des caractères biochimiques. L'examen morphologique des bactéries peut se faire soit à l'état frais, soit après coloration de Gram.

La coloration de Gram est une coloration différentielle basée sur la structure de la paroi bactérienne qui est différente selon qu'il s'agisse de bactéries à Gram positif ou à Gram négatif, ainsi que la forme et mode de regroupement des cellules.

Technique :

Préparation d'un frottis:

Réalisation de frottis d'une culture bactérienne à partir de culture fraîches à l'aide d'une pipette pasteur/ anse de platine, et l'étaler sur une goutte d'eau distillé déposée sur une lame propre, suivi de séchage et fixation à la chaleur.

Coloration de gram :

- Une coloration au violet de gentiane est ajoutée à la culture fixée. Après 10 à 60 secondes, la tâche est versée et l'excédent de tâche est rincé à l'eau. Le but est d'éliminer la tache sans perdre la culture attachée.
- La solution de Lugol est utilisée pour recouvrir le frottis pendant 10 à 60 secondes puis lavée à l'eau. Cette étape est connue sous le nom de "fixation du colorant".
- Quelques gouttes de décolorant « alcool » sont ajoutées à la lame. Cette étape est connue sous le nom de "traitement au solvant". La lame est rincée à l'eau en 5 secondes pour éviter une décoloration excessive des cellules gram-positives.
- Le frottis est contre coloré avec une solution basique de fuchsine pendant 40 à 60 secondes puis lavé à l'eau.



Figure 26: Microscope optique

Matériel et méthodes

Examen microscopique: La lame doit subir un examen au microscope (voir figure 26) (grossissement 100x avec une goutte d'huile d'immersion)

Lecture : Avec cette coloration, les bactéries « Gram + » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram - » sont colorées en rose ou en rouge.

5. Indice de réfraction

Selon (**Guenther, E. 1948**), les étapes pour mesurer l'indice de réfraction (voir figure 27):

Préparation: Nettoyez soigneusement le prisme du réfractomètre avec de l'eau distillée et essuyez-le avec un chiffon doux et propre.

Application de l'échantillon: Déposez délicatement une ou deux gouttes d'huile essentielle sur la surface du prisme.

Observation: Fermez le couvercle du réfractomètre et dirigez l'appareil vers une source lumineuse.

Lecture: Observez à travers l'oculaire. Vous devriez voir une ligne de démarcation entre une zone claire et une zone sombre. L'indice de réfraction est la valeur sur l'échelle où cette ligne se situe.



Figure 27: Réfractomètre

Correction à 20 °C : Pour corriger la valeur de l'indice mesuré à une température différente

de 20 °C, on utilise la formule suivante : $n_{20} = n_T + 0,00045 * (T - 20)$

n₂₀: Indice de réfraction à 20°C, **n_t:** Indice de réfraction mesuré à la température t.

t: Température en degrés Celsius à laquelle la mesure a été effectuée.

0,00045: Coefficient de température pour la plupart des liquides.



Résultats et discussion

1. Indice de réfraction :

L'indice de réfraction brut mesuré à température ambiante des huiles essentielles (voir figures 28, 29, 30) sont résumés dans le tableau suivant :

Huiles essentielles	Indice de réfraction
Menthe poivrée	1,4564
Épinette noire	1,4682
Laurier noble	1,4627

Tableau 18: Indice de réfraction brut des huiles essentielles



Figure 28: Indice de réfraction d'huile essentielle de menthe poivrée



Figure 29: Indice de réfraction d'huile essentielle d'épinette noire



Figure 30: Indice de réfraction d'huile essentielle de laurier noble

Résultat et discussion

Une correction de température a été appliquée afin d'exprimer l'indice de réfraction à température standard de 20 °C, conformément aux recommandations analytiques

- Menthe poivrée [1,455 – 1,485] (<https://origine.bio/fr/16708-huile-essentielle-menthe-poivree-1-litre>)

$$n_{20} = n_T + 0,00045 * (T - 20) \text{ (Guenther, E. 1948)}$$

$$n_{20} = 1,4564 + 0,00045 * (27,7 - 20)$$

$$n_{20} = 1,4598$$

- Épinette noire [1,467 – 1,472] (<https://www.florilab.fr/pages/26-huile-essentielle-d-epinette-noire>)

$$n_{20} = n_T + 0,00045 * (T - 20)$$

$$n_{20} = 1,4682 + 0,00045 * (27,8 - 20)$$

$$n_{20} = 1,4717$$

- Laurier noble [1,460 – 1,475] (<https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-laurier-noble/>)

$$n_{20} = n_T + 0,00045 * (T - 20)$$

$$n_{20} = 1,4627 + 0,00045 * (28,5 - 20)$$

$$n_{20} = 1,4665$$

Les valeurs de l'indice de réfraction corrigées à 20 °C ont été présentées dans le tableau suivant :

Huiles essentielles	Indice de réfraction
Menthe poivrée	1,4598
Épinette noire	1,4717
Laurier noble	1,4662

Tableau 19: Indice de réfraction des huiles essentielles corrigé à 20 °C

Conclusion :

Selon (Joulain, D., & König, W. A. 1998), les valeurs obtenues après correction à 20 °C se sont révélées cohérentes avec celles rapportées dans la littérature, ce qui suggère une bonne pureté des huiles essentielles utilisées.

2. Identification microscopique :

Les résultats de coloration de gram des bactéries isolée (voir figures 31,32, 33) à partir de milieu gélose nutritive avant l'utilisation du gel sont représentés dans le tableau :

Milieu de culture	Bactéries	Aspect microscopique (microscope optique, objectif : 100x)
Gélose nutritive	<i>Escherichia coli</i>	Bacilles gram négatif
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci gram positif en amas
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacilles gram négatif

Tableau 20 : Aspect microscopique des colonies après la coloration de gram

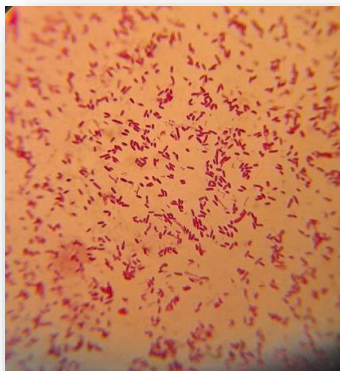


Figure 31 : *Escherichia coli* en microscope

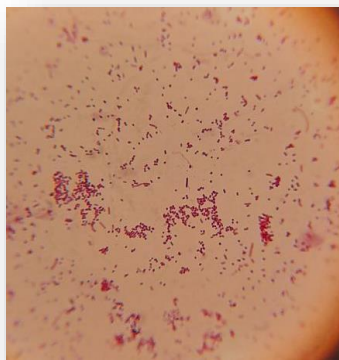


Figure 32 : *Staphylococcus aureus* en microscope

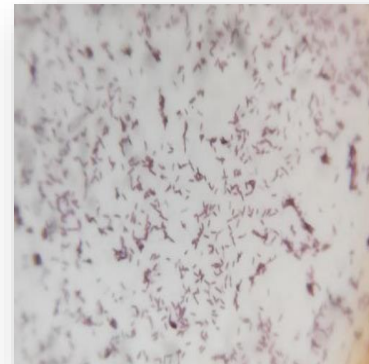


Figure 33: *Pseudomonas aeruginosa* en microscope

3. Détermination de l'activité antibactérienne des biogels

3.1. Test des puits contre *Escherichia coli* :

L'analyse des résultats obtenus suite au test d'efficacité antibactérienne par la méthode des puits (voir figure 34) montre que :

- **L'ampicilline** (Puit 3) n'a montré aucune activité inhibitrice contre *E. coli* dans toutes les préparations testées (diamètre d'inhibition = 0 mm). Cela peut être dû à une résistance intrinsèque de la souche utilisée à cet antibiotique ou à une dégradation du composé.
- **La chlorhexidine** (Puit 4), quant à elle, a montré une activité antibactérienne significative avec des diamètres d'inhibition variant de :

0 mm (Épinette 1), 14 mm (Épinette 2).

23 mm (Laurier 1), 16 mm (Laurier 2).

23 mm (Menthe 1), 18 mm (Menthe 2).

Ce qui confirme son efficacité reconnue contre les bactéries Gram- (comme *E. coli*), bien que des variations aient été observées en fonction des essais (probablement liées à des différences de diffusion ou de manipulation).

- Les gels à base d'**agar** et le gel **négatif** n'ont présenté aucune zone d'inhibition, confirmant ainsi :

Absence d'effet antibactérien propre.

La validité du test par l'absence de contamination croisée.

- Les gels à base de **gomme** ont présenté des résultats faibles, ne dépassant pas les 16 mm dans le meilleur des cas (ex : Laurier 1), ce qui indique une activité antibactérienne modeste, nettement inférieure à celle de la chlorhexidine.

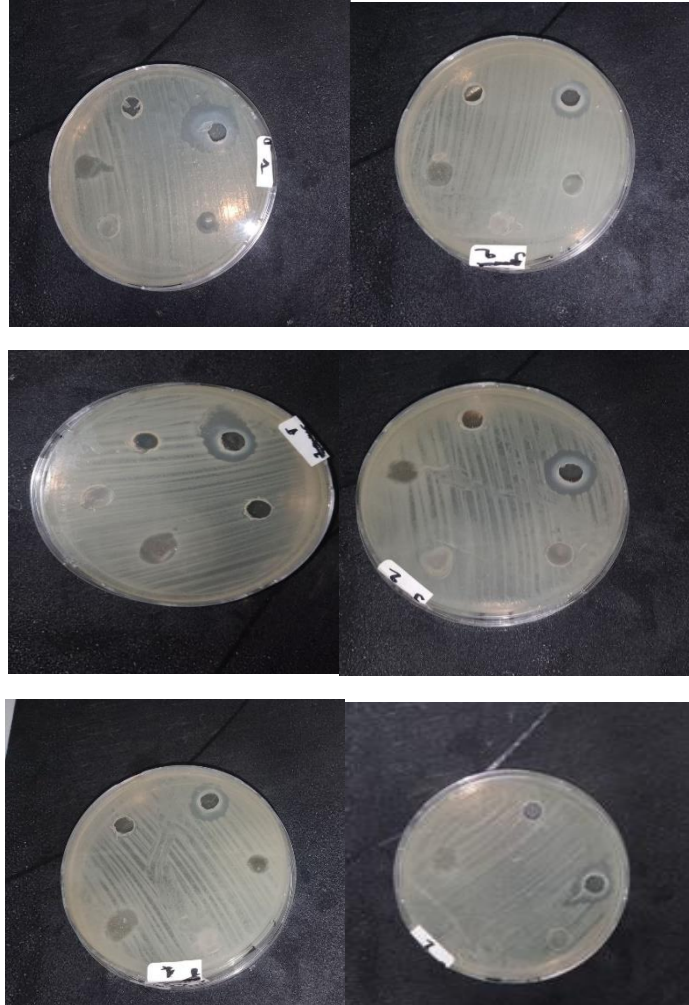


Figure 34: Zones d'inhibition d'*E.coli* avec les gels testés (diffusion en puits)

Conclusion pour *E. coli* :

Les résultats suggèrent que les gels formulés avec des huiles essentielles et de la gomme xanthane présentent une **certaine activité** antibactérienne contre *E. coli*, mais cette activité reste limitée comparée aux références pharmaceutiques (**témoins positives**). De plus, les huiles issues de l'épinette semblent être les moins efficaces parmi les plantes testées.

Les gels	Zone d'inhibition (mm)
Laurier 1	16
Laurier 2	12
Menthe 1	15
Menthe 2	14
Épinette 1 et 2	14

Tableau 21: Zones d'inhibition (gel à la gomme)

A. Activité Antibactérienne Relative (AAR)

Rappel :

$$\text{AAR} = (\text{moyenne gel} / \text{moyenne Chlorhexidine}) * 100$$

▪ **Laurier :**

$$\text{Chlorhexidine} : (23 + 16)/2 = 19.5$$

$$\text{AAR} = (14 / 19.5) \times 100 \approx 71.79\%$$

▪ **Menthe :**

$$\text{Chlorhexidine} : (23 + 18)/2 = 20.5$$

$$\text{AAR} = (14.5 / 20.5) \times 100 \approx 70.73\%$$

▪ **Épinette :**

$$\text{Chlorhexidine} : (0 + 14)/2 = 7.0$$

$$\text{AAR} = (14.0 / 7.0) \times 100 = 200\%$$

HE	Moyenne (mm)	Écart-type	Moyenne Chlorhexidine	AAR (%)
Laurier	14.0	2.0	19.5	71.79%
Menthe	14.5	0.5	20.5	70.73%
Épinette	14.0	0.0	7.0	200.00%

Tableau 22: Analyse statistique de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles contre E. coli

B. Interprétation des calculs

L'huile essentielle de Laurier a montré une moyenne de zone d'inhibition de 14 mm avec un écart-type de 2,0, indiquant une certaine variabilité entre les deux répétitions. De son côté, l'huile de Menthe a présenté une inhibition moyenne légèrement supérieure

(14,5 mm), mais avec une variabilité plus faible (écart-type = 0,5), ce qui témoigne d'une meilleure homogénéité de l'effet antimicrobien. Enfin, l'huile essentielle d'Épinette noire a donné des résultats constants (14 mm, écart-type = 0), traduisant une stabilité dans son activité, bien que ses performances soient influencées par un témoin de référence (Chlorhexidine) particulièrement faible (7 mm), d'où un AAR très élevé (200 %).

C. Analyse de l'activité antibactérienne relative (AAR) :

Le gel au Laurier atteint 71,79 % de l'efficacité de la chlorhexidine, celui à la Menthe atteint 70,73 %, tandis que le gel à l'Épinette surpasse même le témoin positif avec un AAR de 200 %.

Cependant, cette dernière valeur doit être interprétée avec précaution, car elle résulte d'un témoin chlorhexidine peu actif dans ce cas précis, ce qui amplifie artificiellement le pourcentage.

D'une manière générale, bien que les zones d'inhibition mesurées restent modestes, leur présence indique un certain potentiel antimicrobien du gel, en particulier pour les huiles de Laurier et de Menthe. Il convient toutefois de noter que l'agar-agar utilisé dans un autre gel n'a montré aucune activité, ce qui confirme l'importance de la gomme xanthane dans la libération ou la stabilisation des composés actifs.

D. Analyse comparative et interprétation mécanistique

L'analyse comparative des résultats obtenus révèle que les trois huiles essentielles testées présentent toutes une certaine efficacité contre *E. coli*, bien que leurs performances varient légèrement.

Selon (Ouibrahim et al., 2013) , l'huile essentielle de Laurier noble (*Laurus nobilis*) se distingue par la présence de composés phénoliques tels que l'eugénol et le 1,8-cinéole, connus pour perturber la membrane cytoplasmique bactérienne, augmentant ainsi la perméabilité cellulaire et provoquant la lyse.

Selon (Iskan, G., et al, 2002) , l'huile de Menthe poivrée (*Mentha piperita*), riche en menthol et menthone, exerce une action antimicrobienne en modifiant la fluidité membranaire et en interférant avec les enzymes respiratoires de la bactérie. Cette activité peut expliquer les résultats homogènes observés dans nos tests.

Quant à l'huile essentielle d'Épinette noire (*Picea mariana*), bien que moins documentée, elle contient des monoterpènes tels que le camphène et l' α -pinène, dont l'activité antibactérienne repose souvent sur des mécanismes d'altération de l'intégrité de la paroi cellulaire.

Ces observations suggèrent que la composition chimique spécifique de chaque huile essentielle influe directement sur son activité antimicrobienne. Par ailleurs, le support polymérique (gomme xanthane) semble jouer un rôle important dans la rétention et la libération contrôlée des principes actifs, ce qui peut expliquer l'absence totale d'effet dans le gel formulé à base d'agar-agar.

3.2. Test des puits contre *Staphylococcus aureus*

Les résultats obtenus à partir du test d'efficacité antibactérienne par la méthode des puits ont montré une absence totale d'activité inhibitrice pour tous les gels testés, incluant ceux à base de Menthe, Épinette, et Laurier (voir figure 35). Ces gels n'ont pas présenté de zones d'inhibition (0 mm), ce qui suggère que leur concentration ou formulation n'était pas suffisante pour inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Chlorhexidine a montré des résultats efficaces, avec des zones d'inhibition allant de 22 mm à 28 mm.

AMP a également montré des résultats variés entre 20 à 32 mm.

Cela indique que la Chlorhexidine est beaucoup plus efficace contre *Staphylococcus aureus* que les huiles essentielles testées, qui n'ont eu aucune activité antibactérienne contre cette souche.

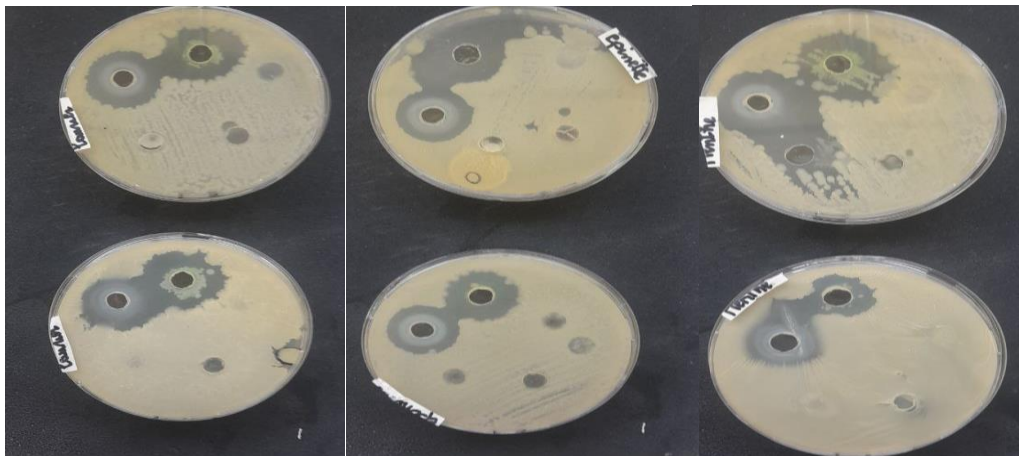


Figure 35: Zones d'inhibition de *S. aureus* avec les gels testés

3.3. Test des puits contre *Pseudomonas aeruginosa*

Concernant *Pseudomonas aeruginosa*, aucun des gels testés n'a montré de zones d'inhibition. Le gel négatif a également montré 0 mm d'inhibition, confirmant l'absence d'effet antimicrobien (voir figure 36).

Chlorhexidine a présenté une activité antimicrobienne efficace avec des zones d'inhibition allant de 12 mm à 18 mm.

AMP n'a montré aucune inhibition pour cette souche.

Cela démontre que *Pseudomonas aeruginosa* est globalement plus résistant aux huiles essentielles testées, avec seulement Chlorhexidine ayant un effet limité.

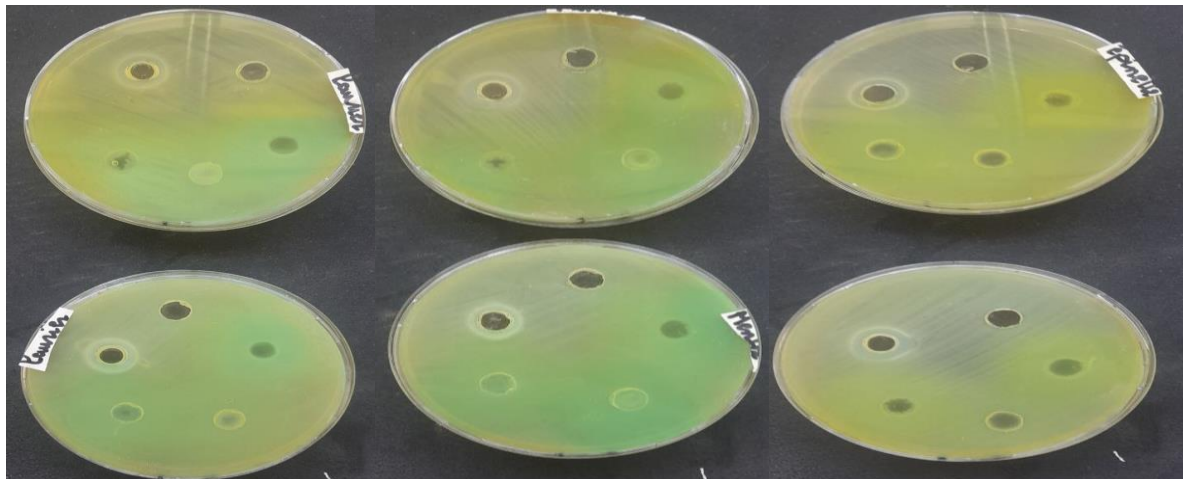


Figure 36 : Zones d'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* avec les gels testés

Conclusion

Les résultats montrent que les gels à base d'huiles essentielles testées n'ont montré aucune activité antibactérienne contre les souches de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les témoins positifs, comme Chlorhexidine, ont montré une activité significative, mais les huiles essentielles et leurs formulations dans les gels n'ont pas atteint une efficacité comparable.

Cela suggère que les huiles essentielles, bien qu'elles aient des propriétés antibactériennes naturelles, nécessitent probablement des concentrations plus élevées ou des formulations spécifiques pour avoir un effet inhibiteur notable sur ces souches bactérienne



Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Ce travail s'inscrit dans la recherche de solutions naturelles alternatives aux antimicrobiens synthétiques, dans un contexte où la résistance bactérienne constitue un enjeu de santé publique majeur. En mettant au point des gels à base d'huiles essentielles issues de plantes médicinales locales, notre objectif était d'évaluer leur potentiel antibactérien face à trois souches bactériennes pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats obtenus ont révélé une activité modérée uniquement contre *E. coli*, avec certaines formulations contenant des huiles de laurier ou de menthe présentant des diamètres d'inhibition allant jusqu'à 16 mm. Toutefois, aucune activité significative n'a été observée contre *S. aureus* ou *P. aeruginosa*. Ces résultats suggèrent une efficacité limitée dans les conditions expérimentales adoptées, probablement en lien avec la concentration des huiles essentielles, leur nature chimique, ou leur interaction avec les agents gélifiants.

Par ailleurs, l'absence d'effet pour les formulations à base d'agar-agar peut être attribuée à des contraintes de diffusion dans le milieu gélifié, ou à une dénaturation partielle des composés actifs pendant la préparation.

L'ensemble de ces données conforte l'idée que le potentiel antimicrobien des huiles essentielles dépend non seulement de leur composition biochimique, mais également de leur mode d'application et de leur environnement galénique.

En définitive, cette étude met en lumière les opportunités mais aussi les limites de l'utilisation des huiles essentielles dans les formulations topiques. Une optimisation plus poussée des protocoles et des concentrations reste indispensable pour envisager une application thérapeutique ou hygiénique concrète.



**Références
bibliographiques**

A

- **Abed A. Oius I. (2015).** Contribution à l'étude des flavonoïdes des céréales de la région de Constantine et évaluation de leurs activités biologiques (mémoire de fin d'étude). p 06 -08.
- **AHLEM, T., MAROUA, M. (2020).** Etude des caractéristiques physiques et chimiques des huiles essentielles du clou de girofle et de l'eucalyptus. P 21 ; 22 ; 23.
- **Alteyrac, J. (2005).** Influence de la densité de peuplement et de la hauteur dans l'arbre sur les propriétés physico-mécaniques du bois d'épinette noire (*Picea mariana* (Mill.) B.S.P.). Thèse de doctorat, Université Laval, Québec, Canada.
- **AMAROUCHE.M, AMOUCHE.F, (2018).** Extraction, analyse et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des polyphénols de la menthe poivrée MEMOIRE DE MASTER SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE .TIZI-OUZOU .P 04,05.
- **Amiot, J. (2005).** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires. 2005. Thèse de Doctorat, Université Montpellier, ENSA.
- **Ancuceanu R., Hovanet V.M., Anghel A.I., Dinu M ., Dune A., Ciolea M., Tolaru O., Popescu C.(2017).** Variation of polyphenols and iron concentration in *Mentha x piperita* l. By development stage and soil type. *Farmacia*, 65, 5, pp 748 - 754.
- **Andrienne, P., (1998).** La Gemmothérapie, médecine des bourgeons. Amyris Éd., Bruxelles, 1998, 207 p.
- **Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H., (1992) :** Bactériologie clinique, 2ème édition, Ed : Ellipses, ISBN : 2-7298-9218-4, 511p.

B

- **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446–475.
- **Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

- **Barir O et Ghilani M (2011).** « Le Profil de résistance aux B-lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* d'origine Hospitalière ». Mémoire de master : Biochimie et biologie moléculaire, Biskra: Université Mohamed khider-Biskra.
- **Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., & Kingston D. G. (2007).** Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* L. *Food chemistry* 104(4): 1478-1484.
- **Baskerville, G.L., & Tanton, T.W. (1964).** « The Ecology of *Picea Mariana* in the Boreal Forest ». *Canadian Journal of Forest Research*.
- **BENABID D. (2009).** Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa*. Université de Reim Champagne-Ardenne. Thèse de doctorat en Immunologie. P161.
- **Ben Djamaa J.M., Tersim N., Taleb Toudert K., Khouja M.L. (2012).** Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*. 48, pp: 97-104.
- **Boscus, J. (2005).** *Transfert électro-osmotique en milieu poreux déformable- Application au gel d'agar-agar* (Doctoral dissertation, Université Montpellier II- Sciences et Techniques du Languedoc).
- **Boukhatem MN, Ferhat A et Kameli A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Revue Agrobiologia*, 9: 1653-1659.
- **Boudissa H. (2015).** Le dosage des monoterpènes dans les huiles essentielles par la combinaison PLS-IRTF : Exploitation du spectre dérivé (mémoire de fin d'étude). P 09.
- **Boutera K. Hammoudi I. (2016).** Etude extractive des alcaloïdes et évaluation de leur l'activité antimicrobienne du champignon *Pleurotus eryngii* (mémoire de fin d'étude). P 10.
- **Bruneton J. (1993).** Huiles essentielles, dans *Pharmacologie: phytochimie, plantes médicinales*, 2è éd. édition: Lavoisier, Paris.
- **Brunton, J. (1999).** *Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales*. Tec & Doc Lavoisier.

- **Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223–253.

C

- **Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2013).** Microbiology: a laboratory manual. Pearson Higher Ed.
- **Castellani A & Chalmers AJ (1919).** Family Bacillaceæ Fischer, 1894. In: Baillière, Tindall & Cox (eds) Manual of tropical medicine. 3rd edition. William Wood & cie. New York.
- **Chaouch Amira, T. N. R. F. (2023).** Conception d'un gel antibactérien à base des huiles essentielles (Clou de girofle, Thym et la Sauge).P 53-54.
- **Chmit, M.; Kanaan, H.; Habib, J.; Abbass, M.; Mcheik, A.; Chokr, A. (2014).** Antibacterial and antibiofilm activities of polysaccharides, essential oil, and fatty oil extracted from *Laurus nobilis* growing in Lebanon. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 7, 546–552. [CrossRef]
- **COWAN M.M. (2010).** Plant Product as antimicrobien agents. *Clinical Microbiologie Reviews*, 12: 564–582.

D

- **Djibo AK. (2000).** Analyse des huiles essentielles de quelques plantes de la flore du Burkina Faso appartenant aux familles des Lamiacéae (*Hyptis spicigera* Lam., *Hyptis suaveolens* Poit., *Ocimum americanum* L.) et des Poacéae (*Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng, *Cymbopogon giganteus* Chiov et *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). Thèse de doctorat, Université d'Ouagadougou.
- **Dobrindt, U. (2005).** (Patho-)Genomics of *Escherichia coli*. *Journal of Medical Microbiology*, 295(6-7): 357-37.
- **Dobrindt, U., F. Agerer, K. Michaelis, A. Janka, C. Buchrieser, M. Samuelson, C. Svanborg, G. Gottschalk, H. Karch, and J. Hacker. (2003).** Analysis of genome plasticity in pathogenic and Commensal *Escherichia coli* isolates by use of DNA arrays. *Journal of Bacteriology*, 185(6): 1831-1840.

- **Dromigny E, (2011).** Les critères microbiologiques des denrées alimentaires, Ed: Lavoisier, Paris. P153, 530.

E

- **Essoh C.Y.(2013)** « Étude épidémiologique de souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsables d'infections et de leurs bactériophages pour une approche thérapeutique. » Thèse de doctorat: Science agricole, Paris-sud: Université Paris-Sud.

F

- **FAO. (2015).** Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculteur.
- **Ferhani K. Rezoug S. (2022).** Contribution à l'étude de la composition phytochimique de l'huile essentielle des fleurs d'une plante médicinale et aromatique : *Syzygium cumini* (L.) Skeels (mémoire de fin d'étude). P 09.
- **Ferreira A., Proença C., Serralheiro M.L.M., Araújo M.E.M. (2006).** The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J. Ethnopharmacology, 108*: 31-37.
- **Figueredo G. (2007).** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de doctorat, Université de Blaise Pascal, France.
- **Fleurentin, J., Pelt, J.-M., & Mazars, G. (2009).** La médecine des plantes : Histoire et pharmacologie des plantes médicinales. O. Jacob.
- **Fouché J.G, A. Marquet, and A. Hambuckers. (2000).** Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.
- **Franchomme P, Jollois R, Pénéol D, (2001).** L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. 2001.

G

- **Garnier, M., Delamare, V., Delamare, J., Delamare, J., & Delamare, T. (2009).** *Dictionnaire illustré des termes de Médecine 30 ème édition.* Paris: Maloine.

- **Geerts P., Rammeloo J., Van Cauteren G., (2002).** *Laurus nobilis : le livre du laurier*. Gand: Ed. Ludion; 131 p.
- **Gerunwald, J, Janicke C. (2006).** *Guide de la PHYTOTHERAPIE*. 2ème édition. Edition MARABOUT. Italie.
- **Guenther, E. (1948).** *The Essential Oils: Vol. 1. History – Origin in Plants – Production – Analysis*. New York: D. Van Nostrand Company.
- **Giudice, P., (2020).** Skin Infections Caused by *Staphylococcus aureus*. *Acta Derm. Venereol.* 100, adv00110 215. <https://doi.org/10.2340/00015555-3466>
- **GOEB Ph. (1999).** *Aromathérapie pratique et familiale*. Ed. MDB.
- **Gordon, D. M., and A. Cowling. (2003).** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates : host and geographic effects. *Microbiology*, 149(12): 3575-3586.
- **Grace, D., Alexandra, F. (2018).** *Staphylococcus aureus*—A foodborne Pathogen: Epidemiology, Detection, Characterization, Prevention, and Control: An Overview. In *Staphylococcus aureus*. Elsevier, P3-10.
- **Guedouari R. (2012).** Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du laurus nobilis l. essais de formulations thérapeutiques. Thèse de Magister universite m’hamedbougara boumerdes.
- **Guenther, E. (1948).** *The Essential Oils: Vol. 1. History – Origin in Plants – Production – Analysis*. New York: D. Van Nostrand Company.
- **Guignard, J.-L. and P. Potier. (2000).** *Biochimie végétale, 2ème ED, ed. T. 2*. Dunod.

H

- **Haba K. (2018).** Contribution à l’étude ethnobotanique des plantes Sahariennes d’intérêt médicinal dans la région d’Oued Righ (mémoire de fin d’étude). P 12.
- **HADDADI. I (2021).** Caractérisation et valorisation de quelques populations de Laurier noble du Nord Algérien, Diplôme de MASTER En Génétique, telmce, P 11,12.
- **Hammami.S., Abdesselem M. (2005).** Extraction et analyse des huiles essentielles de l’amenthe poivrée de la région d’Ouargla. [Thèse]: chimie. Blida P69.

- **Hennekinne, J. A. (2009).** Nouvelles approches pour la caractérisation des toxi-infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive. Thèse Doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. 183p.
- **Houchine, T. (2020).** Activités biologiques des composés phénoliques des extraits du rhizome de *Scripus lacustris* et *Scripus holochoenus* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri). p 10.

I

- **Iscan, G., N. KIrimer, M.n. Kürkcüoglu, H.C. Baser, and F. DEMIrci,(2002)** Antimicrobial Screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(14) : p. 3943-3946.

J

- **Jawetz.E et al., (1973) :** Microbiologie médicale ed : Maloine Paris. p189, 250.
- **Joulain, D., & König, W. A. (1998).** *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*. E.B.-Verlag Hamburg.

L

- **Lawrence BM. (1995).** *Essential oils*. Allured publishing corporation, Carol Stream.
- **Le Loir, Y., Gautier, M. (2010).** *Monographie de la microbiologie : Staphylococcus aureus*. Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- **Le Loir, Y., Gautier, M., Pellerin, J.-L. (2010).** Taxonomie et habitat, in: *Staphylococcus Aureus, Monographies de Microbiologie*. Editions Tec & Doc Lavoisier, p. 283 p.
- **Lloyd, Andrea H.; Fastie, Christopher L.; Eisen, Hilary. (2007).** Fire and substrate interact to control the northern range limit of black spruce (*Picea mariana*) in Alaska. *Canadian Journal of Forest Research*, 37(12): 2480-2493.

M

- **Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (1997).** Brock biology of microorganisms (Vol. 11). Upper Saddle River, NJ: Prentice hall.

- **Merghni, A.; Marzouki, H.; Hentati, H.; Aouni, M.; Mastouri, M. (2016).** Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Pathol. Biol.*, 64, 29–34.
- **Meyer.A et al. (2004).** *Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés*. Ed: Doin, France. 430 p.
- **Mimica-Dukic, N., B. Bozin, M. Sokovic, B. Mihajlovic, and M. Matavulj. (2003).** Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Medica*, 69(5): 413-419.
- **Morel JM (2012).** *Le guide de gemmothérapie : se soigner par les bourgeons*. First Éd., Paris. 56 p.
- **Müller, D., L. Greune, G. Heusipp, H. Karch, A. Fruth, H. Tschäpe, and M. A. Schmidt. (2007).** Identification of unconventional intestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates expressing intermediate virulence factor profiles by using a novel single-step multiplex PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(10): 3380-3390.
- **Muséum national d'histoire naturelle. (n.d).** *Picea mariana* (Mill.) Britton, Sterns & Poggend Inventaire National du Patrimoine Naturel. <https://inpn.mnhn.fr/espece/cd-nom/762061/tab/tasio>

N

- **Nauciel C. (2001).** *Abrégé Bactériologie Médicinale*. Édition: Masson, France, ISBN: 2-294-00428-0. p 127,128, 133,134.
- **NICHOLAS H. J. (1973).** *Phytochemistry Organic Metabolites, Vol. 2*. Yonkers, New York.

O

- **Ouibrahim A, Tlili-Ait-Kaki Y, Bennadja S, Amrouni S, Djahoudi AG, Djebar MR. (2013).** Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African journal of microbiology research*, 7(42): 4968-4973.

- **Ouled Cheikh Yahya, T. B. D. (2021).** Evaluation de la conformité des tisanes conditionnées produites en Algérie (évaluation qualitative et quantitative). p 09-10.

P

- **Pariente L. (2001).** Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2ème Ed Académie nationale de pharmacie. Paris. 1643p.
- **Percival. SL, (2004).** Microbiology of waterborne diseases Ed: Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston. P 480.

Q

- **Quezel P. et Santa S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. Ed CNRS. Paris. 565p.

R

- **Rebecca M Corrigan, Helen Miajlovic and Timothy J Foster. (2009).**Surface proteins that promote adherence of *Staphylococcus aureus* to human desquamated nasal epithelial cells
- **Rouy, E. (2003).** Formulation d'un gel oxydant à matrice organique applicable à la décontamination nucléaire: propriétés rhéologiques, acido-basiques et ozonolyse de la matrice (Doctoral dissertation, Université Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc).page 27

S

- **SANAGO R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine Traditionnelle. Université Bamako (Mali): 53.
- **Smati, M., O. Clermont, A. Bleibtreu, F. Fourreau, A. David, A.-S. Daubie, C. Hignard, O. Loison, B. Picard, and E. Denamur. (2015).** Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations Reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. *MicrobiologyOpen*, 4(4): 604-615.
- **Svoboda KP. (2003).** Investigation of valatile oil gland of *Satureja hortensis* L. (Summersavory) and phytochemical comparison of different varieties. *Int. J. Arom.*, 13: 196-202.

T

- **Tisserand, R., & Young, R. (2014).** *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals* (2nd ed). Churchill Livingstone.
- **Tong, S.Y.C., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L., Fowler, Jr, V.G. (2015).** *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management [WWW Document]. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
- **Toure, D. (2015).** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques medicinales de côte d'ivoire (Doctoral dissertation, Université Felix Houphoet Boigny, Côte d'Ivoire). p 16,17.

V

- **Ventola, C. L. (2015).** The antibiotic resistance crisis : part 1 : causes and threats. *P&T*, 40(4), 277–283.
- **Viereck, L. A., & Johnston, W. F. (1990).** Black spruce : Silvics of North America. U.S. Department of Agriculture .<https://research.fs.usda.gov/silvics/black-spruce>
- **VUE, F. D. U. B. E. (2022).** UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA FACULTE DES SCIENCES DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE.page 14

W

- **Wang, L., Xia, Q., & Li, Y. (2017).** The effects of high-pressure processing and slightly acidic electrolysed water on structure of *Bacillus cereus* spores. *Food Control*, 79, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03>.
- **Wattam, A. R., Abraham, D., Dalay, O., Disz, T. L., Driscoll, T., Gabbard, J. L., ... & Machi, D. (2014).** PATRIC, the bacterial bioinformatics database and analysis resource. *Nucleic acids research*, 42(D1), D581-D591.
- **Wayne, P. A. (2011).** Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.
- **Whitman WB, editor. (2009).** *Systematic Bacteriology [Internet]*. New York, NY: Springer New York. Available: <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-68489-5>.

Y

- **Yadegarinia, D., L. Gachkar, M.B. Rezaei, M. Taghizadeh, S.A. Astaneh, and I. Rasooli, (2006)** Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. Essential oils. *Phytochemistry*. 67(12) : p. 1249-1255.

Z

- **Zhang, Z., Wang, J., Zhang, B., Liu, H., Song, W., He, J., Lv, D., Wang, S., Xu, X., (2013).** Activity of antibacterial protein from maggots against *Staphylococcus aureus* in vitro and in vivo. *Int. J. Mol. Med.* 31, 1159–1165. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1291>
- **Zybak O. (2000).** FICHE TECHNIQUE Huile Essentielle MENTHE POIVREE *Mentha x piperita*

Web graphiques :

- <https://greeneden.fr/blog/huile-essentielle-epinette-noire-les-bienfaits>
- <https://vanessences.fr/content/38-huile-essentielle-epinette-noire-utilisation-proprietes-bienfait>
- <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/escherichia-coli>
- https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas_aeruginosa_SEM.jpg
- <https://origine.bio/fr/16708-huile-essentielle-menthe-poivree-1-litre>
- <https://www.florilab.fr/pages/26-huile-essentielle-d-epinette-noire>
- <https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-laurier-noble/>
- <https://arbrescanada.ca/ressources/arbres-du-canada/epinette-noire-picea-mariana-2/>