

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 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 : microbiologie appliquée

Intitulé :

**Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de
*Myrtus communis L.***

Présenté Par :

- Kerboua Imene
- Djemai Elhem
- Kerbouâ Rimah
- Didji Abdelfateh

Membre de Jury :

Dr. Chekroud Zohra	(Professeure)	Présidente	Université 20 Août 1955 Skikda
Dr. Aggoun Asma	(MCB)	Promotrice	Université 20 Août 1955 Skikda
Dr. Zadri Fethia	(MCB)	Examinatrice	Université 20 Août 1955 Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciement :

Nous tenons à remercier, avant tout, "Dieu" le tout puissant de nous avoir guidés durant toutes ces années et de nous avoir permis de réaliser ce mémoire de fin d'études en nous donnant force, courage et volonté.

*Nous adressons ensuite nos plus sincères remerciements à notre promotrice, Docteur **Aggoun Asma** de nous avoir fait l'honneur de nous encadrer et pour sa gentillesse, sa patience, sa disponibilité, ses précieuses orientations, ainsi que pour ses grands efforts et tout le temps qu'elle nous a consacré pour diriger ce travail avec une grande rigueur scientifique.*

*Nous ne vous remercierons jamais assez docteur. Nous remercions chaleureusement l'ensemble des membres de jury de ce mémoire : Professeure **Chekroud Zohra**, de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury. Docteur **Zadri Fatiha** Maître de Conférences classe B, qui nous a alloué de son temps pour examiner ce travail.*

*Nous adresse nos sincères remerciements et prières à la grand-mère **Dhawia (Jeddat Imene)** qui nous a beaucoup aidés à récolter la plante et qui nous a toujours accompagnés de ses prières sincères pour le succès et la réussite.*

Nous tenons à remercier également tous les enseignants du département des Science de la Nature et de la Vie de l'université du 20 Aout 1955-Skikda.

*Un grand merci à Mme **Bourbia Fairouz**, Cheffe Service du Laboratoire de l'EPH El-Harrouch de la Wilaya de Skikda pour nous a accepté notre stage et à Mme **Djdid Fatiha** pour sa patience, ses précieux conseils et son bienveillance, ainsi que tout le personnel du laboratoire leur aide, surtout **Berdoudi Hasina** et **Laieb Mounira**.*

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble de nos amis(es).

En fin, nous remercions toute personne ayant participé de près ou de loin à l'élaboration et l'évaluation de ce travail.

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail à ceux qui sont chers à mes yeux,

*A mon guide; ma chère mère **Warda**, qui, par ses sacrifices et ses prières a fait de moi la personne que je suis.*

*A mon très cher père **Ahcn** Pour ces conseils ces encouragements et la force qu'il m'as transmis.*

*A mes frères **Adel, Abdel Raouf, Khouloud**, merci pour votre soutien vos encouragements inconditionnels.*

*À mon amie Préférée **Soumia** pour leur soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.*

*Au **Dr Machiaa** , qui a contribué a la réalisation de ce travail de par ses conseils, je vous suis très reconnaissant.*

*A mon équipe **Elhem, Rimah et Abdelfateh** pour les merveilleux moments passés en votre compagnie, je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

Je n'oublie pas ma grande mère pour leur amour, contribution et surtout leurs invocation, j'espère vous rendre fières de moi ; que dieu vous bénisses.

*Et sur tout J'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes Familles **KERBOUA** et **SOUABNI** ((oncles, tantes, cousins. Cousines))*

Toutes mes amies, qui m'ont toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire. Pour leur soutien moral et intellectuel tout au long de la réalisation de ce travail

*((**Naziha, Aya** et les plus belles-filles du groupe Messenger "**MÉMOIRE 2023**")*

Imene

Dédicace :

À la mémoire de mon cher oncle Ahmad, qu'ALLAH bénisse son âme, le pardonne et l'acquiert dans son paradis.

À la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à ma famille.

À maman que j'adore, qu'ALLAH la garde pour nous.

À mon père Abubakr et mes chers frères, Sofiane, Yacine et Mohamed El Amine.

À ma grand père Salah et ma grand mère Barika, à ma tante Warda et mon oncle Salime, je leurs souhaite tout le bonheur et la réussite dans leur vie.

À mes amis, Imene et Rimah.

À tous les étudiants de la promotion 2023 Microbiologie Appliquée.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et sœurs de cœur.

Elhem

Dédicace :

Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude à Allah, qui m'a accordé la force et la patience pour accomplir ce modeste mémoire qui témoigne des haut comme des bas durant de nombreux mois consécutifs. J'avais la certitude qu'Allah était ma première source de force pour surmonter ces circonstances.

*Je tiens à exprimer mes chaleureux remerciements à notre encadrante, **Mme Aggoun Asma**, pour ses efforts, qu'elle nous a consacré afin de terminer ce mémoire dans les délais impartis.*

*Un spécial merci à l'honorable **Mme Machia**, qui a toujours été notre refuge et celui de tous les étudiants, et qui n'a jamais hésité à partager son expertise.*

*À ma petite famille, ma chère maman : **Radia Bouguettaya**, mon cher papa: **Abdelhafid** et mon cher frère : **Yasser** et ma chère sœur : **Wissal**, je vous remercie tous de m'avoir soutenu tout au long de mes études. Je vous aime.*

*Je tiens à remercier ma cousine **Roumaissa Bouguettaya**, qui est pour moi comme une soeur et qui n'a jamais hésité à me venir en aide. Elle a été une partie indispensable de ce mémoire.*

*Et je n'oublierai pas les membres de l'équipe avec lesquels j'ai travaillé pendant des années et qui ont été une partie indispensable de ce modeste travail **Kerboua Imene, Djamai Elhem, Didji abdelfateh**. Je vous remercie pour vos efforts, votre travail acharné et votre patience pour que notre mémoire de fin d'études prenne cette forme.*

*Enfin, à mes amies que le hasard a rassemblées et qui sont devenues des sœurs : **Bouchra, Chaima, Dikra, Linda, Meriem** (Mostaganem, Tlemcen, Alger), **Oum hani, Selma**, merci pour votre soutien, votre confiance en moi et en mes capacités. Merci pour vos prières et votre présence dans les moments importants. Les mots ne suffiront pas à exprimer ma gratitude et mon amour envers vous.*

Merci à tous ceux qui ont contribué au succès de ce mémoire, que ce soit de près ou de loin. Je n'oublierai jamais ce que vous avez fait pour moi aussi longtemps que je vivrai.

Rimah

Dédicace :

En premier lieu, je tiens à remercier "Allah", notre créateur pour m'avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce travail A tous ceux qui m'aiment, tous les mots ne suffiront jamais à vous exprimer mon sincère amour.

*À ma très chère mère **Samira Gueddah** qui a été mon mentor mon exemple mon soutien que quoi je fasse où je dise je ne pourrai jamais te rendre ce que tu m'as donné.*

*À mon très cher père **Djamel** qui a été toujours là pour moi apportant son soutien et veillant pour ma réussite.*

Votre présence depuis ma naissance a été la plus grande motivation qui m'a poussé à progresser durant chaque étape de ma vie en recherchant votre satisfaction. Je vous remercie pour tous vos sacrifices que Dieu vous accorde longue vie.

*A mon très chère frère **Badreddine abdelamed**, qui n'a pas hésité à tendre sa main quand j'en avais besoin merci.*

*A ma chère grand-mère **El Hadja**.*

*A mon bras droit et mon frère **Abderraouf**, qui a été toujours là pour moi dans n'importe quel moment merci.*

*A mes amis : **Zineedine, Salaheedine, Aymen, Abdenour, Brahim, Marouane**.*

*Sans oublier l'équipage avec qui j'ai travaillé durant toutes ses années qui ont été d'une importance primordiale pour le bon déroulement de ce mémoire **Kerbouâ Rimah, Kerboua Imene, Djamai Elhem**. Vous êtes remercié pour tous vos efforts et votre patience.*

*A mon encadrante **Mme Aggoun Asma**, merci pour vos conseils et votre accompagnement. Merci **Mme Machia**, qui n'a jamais hésité à nous partager ses connaissances.*

*A mon chat **Tommy**.*

« Ce travail n'est pas la fin d'un cycle, c'est un début d'un long parcours Insha 'Allah. La confiance en Dieu est le succès. »

Abdelhateh

Résumé

Le mauvais usage des antibiotiques et leur utilisation accrue ont engendré l'apparition de résistance chez certaines souches microbiennes créant ainsi un problème de santé publique majeur. Cette propagation a entraîné une diminution considérable du nombre d'antibiotiques efficaces qui sont actuellement disponibles. Notre travail a pour but d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*, une plante connue depuis l'antiquité pour ses vertus médicinales.

L'activité antimicrobienne a été évaluée sur 7 souches bactériennes (5 souches cliniques: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, et 2 souches de référence: *Staphylococcus aureus* ATCC et *Escherichia coli* ATCC) et une levure (*Candida albicans*), et cela par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (aromatogramme), (Mueller-Hinton pour les bactéries et milieu saboraaud pour la levure) en mesurant les diamètres des zones d'inhibition ainsi que par la méthode de macro dilution en milieu liquide en déterminant les CMI et les CMB.

Les diamètres des zones d'inhibition vis-à-vis de l'huile essentielle varient entre 6 et 22 mm, avec des CMI comprises entre 2,5 et 5 mg/ml. Deux souches, *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli* ATCC se sont révélées résistantes. Les résultats les plus prometteurs ont été obtenus avec la souche de *Staphylococcus aureus* ATCC qui a présenté une zone d'inhibition relativement importante.

Ces résultats, montrent que l'huile essentielle est légèrement plus active contre les bactéries Gram positives (*S.aureus* avec le plus grand diamètre d'inhibition 22 mm) que celles à Gram négatif, et confirme l'hypothèse de la variation de la sensibilité des bactéries en fonction de la structure de la paroi, car la paroi des Gram négatifs est plus complexe que celle des Gram positifs.

Mots clés : *Myrtus communis L.*, Huiles essentielles, Activités antimicrobiennes, Aromatogramme, CMI, CMB et CMF.

Summary

The misuse of antibiotics and their increased usage have led to the emergence of resistance in certain microbial strains, thereby creating a major public health problem. This spread has resulted in a significant reduction in the number of effective antibiotics currently available. Our work aims to evaluate the antimicrobial activity of the essential oil of *Myrtus communis L.*, a plant known since ancient times for its medicinal properties.

The antimicrobial activity was evaluated against 7 bacterial strains (5 clinical strains: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, and 2 reference strains: *Staphylococcus aureus* ATCC and *Escherichia coli* ATCC) and one yeast strain (*Candida albicans*). This was done using the agar diffusion method (aromatogram) (Mueller-Hinton agar for bacteria and Sabouraud agar for yeast) by measuring the diameters of the inhibition zones. The activity was also assessed using the broth microdilution method in liquid medium to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC).

The diameters of inhibition zones ranged from 6 to 22 mm for the essential oil, with MIC values ranging from 2.5 to 5 mg/ml. Two strains, *Pseudomonas aeruginosa* and *E. coli* ATCC, were found to be resistant. The most promising results were obtained with the *Staphylococcus aureus* ATCC strain, which exhibited a relatively large inhibition zone.

These results show that the essential oil is slightly more active against Gram-positive bacteria (*S. aureus* with the largest inhibition zone diameter of 22 mm) than Gram-negative ones. It confirms the hypothesis of variation in bacterial sensitivity depending on the structure of the cell wall (the cell wall of Gram-negative bacteria is more complex than that of Gram-positive bacteria).

Keywords: *Myrtus communis L.* Essential oils, Antimicrobial activities, Aromatogram,, MIC, MBC and MFC,

ملخص

سوء استخدام المضادات الحيوية واستخدامها المتزايد أدى إلى ظهور مقاومة في بعض السلالات الميكروبية، مما أحدث مشكلة صحية عامة كبيرة. هذا الانتشار أدى إلى انخفاض كبير في عدد المضادات الحيوية الفعالة المتاحة حالياً. يهدف عملنا إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات لزيت الشجرة الحمضية *Myrtus communis L*، وهي نبات معروف منذ العصور القديمة بفوائده الطبية.

تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات على 7 سلالات بكتيرية (5 سلالات سريرية: *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Enterobacter cloac*، *Klebsiella pneumoniae*، و 2 سلالات مرجعية: *Staphylococcus aureus ATCC* و *Escherichia coli ATCC*) وسلالة من الخميرة (*Candida albic*) باستخدام طريقة الانتشار على وسط جلدي (ميولر-هينتون للبكتيريا و سابورود للخميرة) عن طريق قياس قطر المناطق التثبيط، بالإضافة إلى طريقة التخفيف الماكروية في وسط سائل لتحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط والحد الأعلى للتركيز المثبط. تتراوح قطرات مناطق التثبيط مع زيت الشجرة الحمضية بين 6 و 22 ملم، مع تراوح في التركيز المثبط بين 5.2 و 5 ملغ/مل. تبين أن سلالاتي *Pseudomonas aeruginosa* و *E. coli ATCC* مقاومتين. تم الحصول على أفضل النتائج مع سلالة *Staphylococcus aureus ATCC* التي أظهرت منطقة تثبيط نسبياً كبيرة

تُظهر هذه النتائج أن الزيت العطري أكثر فعالية بقليل ضد البكتيريا غرام إيجابية (على سبيل المثال: *S. aureus* بأكبر قطر تثبيط يبلغ 22 مم) منها غرام سلبية، وتؤكد فرضية تباين حساسية البكتيريا بناءً على هيكل الجدار الخلوي (حيث أن جدار البكتيريا غرام سلبية أكثر تعقيداً من جدران البكتيريا غرام إيجابية)

الكلمات المفتاحية: (،) (الأس *Myrtus communis*) ، ، الزيوت العطرية، الأنشطة المضادة للميكروبات ، تركيز الحد الأدنى التثبيطي (MIC) و تركيز الحد الأدنى المميت (MB)

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des Abréviations

Résumé

Introduction	1
Chapitre I : Souches microbiennes testées	3
1. Les Souches bactériennes cliniques	3
1.1. <i>Escherichia coli</i>	3
1.1.1. Habitat	3
a. Habitat primaire	3
b. Habitat secondaire	3
1.1.2. Pouvoir pathogène	3
1.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
1.2.1. Habitat	4
1.2.2. Pouvoir pathogène	4
1.3. <i>Enterobacter cloacae</i>	4
1.3.1. Habitat	4
1.3.2. Pouvoir pathogène	5
1.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
1.4.1. Habitat	5
1.4.2. Pouvoir pathogène	5
1.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	6
1.5.1. Habitat	6
1.5.2. Pouvoir pathogène	6

2. Les souches bactériennes de référence	6
3. Souche fongique	6
3.1. <i>Candida albicans</i>	6
3.1.1. Habitat.....	7
3.1.2. Pouvoir pathogène.....	7
Chapitre II : Résistance microbienne aux antibiotiques	8
1. Antibiotiques.....	8
1.1. Généralités	8
1.2. Modes d'action des antibiotiques.....	8
1.2.1. Inhibition de la synthèse de la paroi	8
1.2.2. Inhibition de la synthèse protéique	9
1.2.3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	9
1.2.4. Perturbation de la membrane cellulaire	9
2. La résistance aux antibiotiques	9
2.1. Définition.....	9
2.2. L'origine de la résistance microbienne aux antibiotiques	9
2.3. Les types de la résistance aux antibiotiques	10
2.3.1. La résistance naturelle	10
2.3.2. La résistance acquise.....	10
2.4. Mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques	11
2.4.1. Diminution de la perméabilité des membranes	11
2.4.2. Expulsion par les pompes à efflux	11
2.4.3. Modification de la cible	12
2.4.4. Inactivation enzymatique.....	13
Chapitre III <i>Myrtus communis</i> L. et huiles essentielles.....	14
I. <i>Myrtus communis</i> L.....	14
1. Présentation de la plante.....	14
2. Dénominations internationales	14
3. Situation botanique de l'espèce <i>Myrtus communis</i> L.....	15

4. Description botanique	15
5. Domaines d'utilisations du <i>Myrtus communis. L.</i>	17
5.1. Utilisation traditionnelle	17
5.2. Utilisation récente	17
• En médecine.....	17
• En industrie agroalimentaire	18
• En Cosmétologique et parfumerie	18
II. Les huiles essentielles	19
1. Définition.....	19
2. Rôles des huiles essentielles dans la nature	19
3. Procédés d'extraction des huiles essentielles	20
3.1. L'expression à froid	20
3.2. Hydrodistillation	20
3.3. Distillation à la vapeur	20
3.4. Hydro-diffusion ou la percolation	20
3.5. Autres méthodes.....	20
4. Composition chimique des huiles essentielles.....	21
5. Mécanisme d'action	22
6. Activités biologiques	23
6.1. Activité antimicrobienne.....	23
6.1.1. Activité antibactérienne	23
6.1.2. Activité antifongique	23
6.2. Activité antiviral	23
6.3. Activités anti-inflammatoires.....	24
6.4. Activités antioxydante.....	24
6.5. Activités anti- diabétique	24
6.6. Activités anticancéreuse.....	25
6.7. Activités anti-ulcère	25
7. La toxicité des huiles essentielles	25

Matériel et méthodes	14
1. Matériel	26
1.1. Matériel non biologique	26
1.2. Matériel biologique	26
1.2.1. Matériel végétal.....	26
a. Critères de choix de la plante	27
b. Identification botanique de l'espèce de <i>M.communis L.</i>	27
c. Récolte.....	Error! Bookmark not defined.
d. Séchage	28
1.2.2. Microorganismes testées	28
□ Conservation des souches	29
2. Méthodes	30
2.1. Extraction et conservation d'huile essentielle	31
2.1.1. Protocole d'extraction d'huile	31
2.1.2. Conservation	31
2.3. Détermination du rendement de l'huile essentielle	32
2.4. Enrichissement et revivification des souches.....	32
2.4.1. Enrichissement des bactéries	32
2.4.2. Revivification des souches microbiennes	32
2.5. Identification des souches	33
2.5.1. Observation macroscopique.....	33
2.5.2. Observation microscopique.....	33
A. Examen direct à l'état frais	33
1. Principe	33
2. Mode opératoire	33
B. Coloration de Gram	34
1. Mode opératoire	34
1.1. Fixation du frottis	34

1.2. Procédure de coloration	34
C. Coloration au bleu de méthylène pour <i>Candida albicans</i>	35
1. Principe	35
2. Mode opératoire	35
2.6. Identification biochimique.....	35
□ Galerie classique	35
2.6.1. Test Urée indole	35
a. Principe.....	35
b. Mode opératoire.....	35
c. Lecture	36
2.6.2. Milieu Mannitol mobilité.....	36
a. Principe.....	36
b. Mode opératoire.....	36
c. Lecture	36
2.6.3. Milieu citrate de Simmons.....	36
a. Principe.....	36
b. Mode opératoire.....	37
c. Lecture	37
a. Principe.....	37
b. Mode opératoire.....	37
2.7. L'antibiogramme	38
2.7.1. Préparation de l'inoculum.....	39
2.7.2. Inoculation des géloses	39
2.7.3. Dépôt des disques	39
2.8. L'aromatogramme.....	39
2.8.1. Procédé d'aromatogramme	40
A. Pour les bactéries	40

B. Pour la levure	40
2.9. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	40
2.9.1 Technique de macrodilution en milieu liquide	41
a. Préparation de la solution mère.....	41
b. Préparation des dilutions	41
2.9.3. Détermination de concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)	43
a. Mode opératoire	43
1. Ensemencement :	43
Résultats et discussion	44
1. Extraction de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L.</i>	44
2. Rendement	44
3. Identification des souches	45
3.1. Observation macroscopique et microscopique.....	45
2. Résultats de l'identification biochimique	48
<input type="checkbox"/> Les caractères biochimiques	48
3. Résultats de l'antibiogramme	49
4. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L.</i>.....	54
4.1. Détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L.</i> vis-à-vis des microorganismes testées	54
4.2. Détermination de la CMI.....	57
4.3. Détermination de la CMB et CMF	58
Conclusion et perspectives	59
Références Bibliographiques	59
Annexe.....	59

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
01	Perméabilité des membranes	11
02	pompe à efflux	12
03	Modification de la cible	12
04	Inactivation enzymatique	13
05	Branche de <i>Myrtus communis. L</i>	15
06	Feuilles de <i>Myrtus communis. L</i>	16
07	Les fleurs de <i>Myrtus communis. L</i>	16
08	Baies de <i>Myrtus communis. L</i>	17
09	Structure of α -Pinene	21
10	Structure of 1,8-Cineole	21
11	Localisation du site de récolte	28
12	Feuilles de <i>Myrtus communis L</i>	28
13	Diagramme récapitulatif de la procédure expérimentale	30
14	Préparation de l'extrait d'huile essentielle	31
15	L'appareil d'extraction (Alambic inox alimentaire 304	32
16	Détermination de la CMI en milieu liquide	42
17	Détermination de la CMB/CMF en milieu solide	43
18	les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle	44
19	Histogramme représentatif des résultats de la sensibilité des souches testées par l'huile essentielle	55
20	Histogramme des pourcentages d'inhibition des différentes quantités l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L</i>	56
21	Les diamètres des zones d'inhibition	60

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
01	Matériel non biologique	26
02	Les paramètres géographiques de la région de récolte.....	27
03	Origine des différentes souches microbiennes testées	29
04	Les antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiogramme	38
05	Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle des feuilles du <i>Myrtus communis L</i>	44
06	Rendement d'huile essentielle de <i>Myrtus communis L</i>	44
07	Résultats des observations macroscopique et microscopique des souches microbiennes	45
08	Résultats des tests biochimiques de la galerie classique	48
09	Résultats de l'antibiogramme	49
10	Pourcentage d'inhibition des antibiotiques	53
11	Les diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L</i> . (en mm)	54
12	Les résultats des CMI de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L</i> .	57
13	Les résultats des CMB de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L</i>	58

Liste des abréviations

AG	Acides gras
AK	Amikacine
AM	Ampicilline
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adénosine Triphosphate
AX	Amoxicillin
BMH	Bouillon Muller Hinton
BSB	Bouillon Sabouraud
C	Chloramphenicol
CFM	Cefixime
Cip	Ciprofloxacine
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMF	Concentration Minimale Fongicide
CN	Gentamicine
COL	Colistine
COT	Bactrim
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CPG-SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
CTx	Cefotaxime
CX	Céfoxitine
C+	Contrôle positif
C-	Contrôle négatif
E	Erythromycin
InPEC	Les pathogènes intestinaux
EPH	Etablissement Public Hospitalier

ExPEC	Les pathogènes extra- intestinaux
F	Furanes
FA	A-Fusidique
h	heures
HEs	Huiles essentielles
HGT	Transmission Horizontal des Gènes
KZ	Cefazoline
L	litre
LPS	lipopolysaccharide
<i>M. communis</i>	<i>Myrtus communis</i>
MC	myrtucommulone
mg	milligramme
MH	Muller Hinton
MHE	masse d'huile essentielle
Min	minute
ml	millilitre
mm	millimètre
MV	masse de matière végétale
NA	A-Nal
OX	Ofloxacin
PBP	Penicillin Binding Protein
PLP	Protéines de liaison aux pénicillines
PMA	Plantes médicinales aromatiques
RAM	Résistance antimicrobienne
RHE	Rendement de l'huile essentielle
RIF	Rifampycine
RESALA	le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation
SB	Sabouraud
TE	Tetracycline
TI	Ticarciline

TSI	Triple Sugar Iron
MDR	Multi-drug-resistant
VA	Vancomyc
ul	micro litre
°C	Degrés Celsius
%	Pourcentage
v/v	concentration massique



Introduction

Introduction

La résistance croissante des microorganismes pathogènes aux antibiotiques constitue une menace majeure pour la santé publique à l'échelle mondiale. Ce phénomène, connu sous le nom de multirésistance, implique la capacité des microbes à développer une résistance à plusieurs types d'antibiotiques (**Farida et al., 2020**). Cette résistance résulte à la fois de l'évolution naturelle et de l'utilisation inappropriée d'antibiotiques dans divers domaines tels que la santé humaine, l'agriculture et l'industrie (**Kumar et al., 2022**).

Face aux limites de l'antibiothérapie traditionnelle, les chercheurs et les scientifiques s'efforcent de trouver de nouvelles approches pour lutter contre ces agents pathogènes multi-résistants. L'essor actuel de la thérapie par des substances d'origine végétale (la phytothérapie) offre de nouvelles perspectives thérapeutiques. En effet, depuis quelques années, un intérêt accru est porté sur les huiles essentielles ayant montré des propriétés antibactériennes (**Sadou et al., 2015**). L'Algérie est un pays très riche en plantes médicinales qui poussent généralement à l'état spontané (**Guiliani et al., 2022**).

Les feuilles de *M. communis L.* ont été utilisées comme médicament traditionnel dans de nombreuses communautés pour traiter une variété de conditions, y compris l'inflammation, les ulcères peptiques, la diarrhée, les saignements, l'urétrite, la conjonctivite, la leucorrhée, les maux de tête, l'excès la transpiration et les maladies de la peau (**Al-Maharik et al., 2023**).

De nombreuses études ont démontré l'efficacité antimicrobienne *in vitro*, des extraits et d'huile essentielle des feuilles de *Myrtus communis L.* ce qui est en accord avec les tendances actuelles. *Myrtus communis L.* semble être une plante prometteuse en matière d'antimicrobiens alternatifs contre un nombre croissant de micro-organismes pathogènes résistants aux antibiotiques conventionnels, et qui devraient remplacer ceux de synthèse. Cependant, d'autres études sont encore nécessaires pour comprendre et valider le mécanisme d'action des extraits de myrte et composants des huiles essentielles (**Verica Aleksic et Petar Knezefic, 2013**).

Ce travail a été réalisé au niveau de l'unité de microbiologie du laboratoire de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) Laieb El Daradji à El Harrouch de la Wilaya de Skikda sur une période allant du 06 Avril jusqu'au 17 Mai 2023.

L'objectif de notre travail était :

L'extraction de l'huile essentielle des feuilles de *Myrtus communis L.* de la région de Tamalous (Skikda) au laboratoire de BioVerma et l'évaluation/l'étude de son activité antimicrobienne vis-à-vis des souches microbiennes choisies

Introduction

Décrire le profil de résistance des souches microbiennes cliniques isolées des prélèvements de nature différente (urinaire, pus, vaginale) dans les examens microbiologiques réalisés au Laboratoire des analyses microbiologique "Al Amal" de Dr. Ben Djamaa, ainsi que des souches de référence provenant de l'Institut Pasteur.

C'est dans ce contexte que ce travail s'inscrit avec comme objectif principal d'étudier l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des feuilles de *Myrtus communis L.* Et ceci vis-à-vis au cinq espèces bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli*) et 2 souche de référence ATCC, et une seule souche fongique d'origine clinique (*Candida albicans*).. Grâce au test d'aromatogramme sur milieu solide, la technique de macrodilution en milieu liquide pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et enfin la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) sur milieu solide.



Chapitre I :
Souches microbiennes testées

1. Les Souches bactériennes cliniques

1.1. *Escherichia coli*

Le nom *Escherichia coli* a été donné en hommage aux travaux du pédiatre allemand Théodore Escherich qui la décrit pour la première fois, en 1885 (**Malika et François 2013**). *Escherichia coli* est un bacille à Gram négatif, aéro-anaérobie facultatif, immobile ou mobile avec une structure flagellaire, non-sporulée, elle présente des caractéristiques biochimiques spécifiques : elle est capable de fermenter le lactose, saccharose, glucose et de produire l'indole. Cette bactérie représente 80 à 90 % des coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux qui constituent un sous-groupe des coliformes totaux (**ISO 16654:2001**).

1.1.1. Habitat

a. Habitat primaire

Toutes les souches d'*Escherichia coli* pathogènes sont capables de se multiplier, de persister dans le tractus digestif (**Malika et François 2013**). Le tractus digestif constitue son habitat primaire. Cette bactérie est présente principalement au niveau du colon et du cæcum (**Ducluzeau et Raibaud 1985**). *Escherichia coli* se niche plus particulièrement dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du tube digestif (**Smati et al., 2015**).

b. Habitat secondaire

Elle se retrouve dans les eaux environnementales par le biais des effluents (**Smati et al., 2015**), tels que les eaux usées, les lisiers ou les fumiers des animaux d'élevage ou par les déjections des animaux d'élevage ou des animaux sauvages

1.1.2. Pouvoir pathogène

L'étude des différents modes d'interactions entre l'hôte et la bactérie lors des infections permet de classer les souches de *E. coli* pathogènes en deux principaux pathotypes regroupant les pathogènes extra-intestinaux (ExPEC), responsables d'infections urinaires, de méningites chez les nouveau-nés ou de septicémies et les pathogènes intestinaux (InPEC) responsables de maladies entériques et diarrhée (**Dobrindt et al., 2003 , Kern-Benabout 2006**)

1.2. *Klebsiella pneumoniae*

En 1885, Trevisan a nommé le genre *Klebsiella* en l'honneur du microbiologiste allemand Ewin Klebs (1834-1913). Le nom courant de *Klebsiella pneumoniae* est le «bacille de Friedländer», en l'honneur des travaux de Carl Friedländer qui a décrit la bactérie en 1882 dans les poumons d'un patient décédé d'une pneumonie (**Hart 2006**). *Klebsiella pneumoniae* est une bactérie Gram-négative, encapsulée en forme de bâtonnet, anaérobies facultatifs (**Deepesh et al., 2013 ; Younis et**

al., 2016), lactose +, fermente le glucose avec production de gaz, indole -, citrate +, urée +. Contrairement à la plupart des Enterobactéries, *Klebsiella* se caractérise par leur immobilité (Clave, 2013).

1.2.1. Habitat

Klebsiella pneumoniae est ubiquitaire dans la nature et a deux habitats communs ; l'un est l'environnement, les eaux de surface, les eaux usées les sols et les plants, et l'autre est les surfaces muqueuses des mammifères (Berrazeg et al., 2013). Chez l'homme, elle appartient au microbiote des flores commensales et elle est communément retrouvée au niveau de la peau, de la bouche, des muqueuses digestives et nasopharyngées (Podscun et Ullmann, 1998), les tractus intestinaux (Berrazeg et al., 2013).

1.2.2. Pouvoir pathogène

L'espèce de *Klebsiella pneumoniae* est un pathogène commun, elle est responsable des infections nosocomiales qui concernent le plus souvent les voies urinaires et respiratoires (Podschun et al., 1998), ainsi que d'infections opportunistes chez les malades hospitalisés (infections broncho-pulmonaires, septicémies avec choc, de pneumonies et de bactériémies) (Berrazeg et Rolain, 2013), et enfin des gastro-entérites, des méningites (Wassiyath et al., 2016). Les germes Gram négatifs tels que *Klebsiella pneumoniae* sont rarement responsables d'arthrite chez l'adulte. (Schelenz et al., 2007)

1.3. *Enterobacter cloacae*

Enterobacter cloacae est l'ancienne *Bacillus cloacae* décrit en 1890, puis il a été décrit comme *Bacterium cloacae* par Lehmann et Neumann en 1896 et comme *Cloacae cloacae* en 1919 par Castellani et Chalmers mais renommé *E cloacae* lorsque le genre a été établi (Hart 2006). se sont des bacilles à Gram négatif, mobiles non sporulés, aérobie-anaérobie. Leurs caractères biochimiques sont : Glucose +, lactose +, H₂S -, Citrate +, indole -, Urée- (Clave, 2013).

1.3.1. Habitat

Les entérobactéries se trouvent dans le sol et l'eau, mais *Enterobacter cloacae* peut être un composant minoritaire de la flore intestinale des humains et d'autres animaux et dans les eaux usées (Hart 2006).

1.3.2. Pouvoir pathogène

L'espèce *Enterobacter cloacae*, a été associée à des infections nosocomiales sporadiques et parfois épidémiques. Elle est responsable des épisodes bactériémiques chez l'adulte (**Hart 2006**). C'est un agent pathogène opportuniste responsable d'infection urinaire, infection respiratoire et infection tissulaire (**Clave , 2011**).

1.4. *Pseudomonas aeruginosa*

On 1850, Sédillot, observe la formation de pus bleu dans les pansements des blessés. Fordos a également documenté cela, en 1860, mais ce n'est qu'en 1882 que Gessard a décrit l'organisme responsable de la pigmentation, qu'il a nommé *Bacillus pyocyaneus*. En 1900, Migula a adopté le nom générique *Pseudomonas* et a appelé l'espèce *Pseudomonas pyocyanea*. L'épithète *aeruginosa* est devenu largement utilisé et est maintenant le nom d'espèce approuvé (**Tyrone et Andrew, 2006**). C'est un bacilles Gram négatif, non capsulé, mobile, aérobic strict (**Clave 2011**), ne possédant qu'un seul flagelle polaire qui est essentiel pour assurer leur mobilité. Elle est aussi appelée bacille pyocyanique en raison de sa forme allongée et de la production de pigments bleus et verts par la bactérie : la pyocyanine et la pyoverdine (**Ariane 2017**).

1.4.1. Habitat

Ce microorganisme est ubiquitaire et se retrouve sous forme de saprophyte (**Ariane 2017**), C'est une bactérie à exigence nutritive peu importante et capable de survivre dans l'environnement (eaux, surface, air, aliments, et particulièrement en milieu humide (**Clave, 2011**)). Comme elle peut faire partie de la flore transitoire de l'homme: flore digestive, cutanée, pharyngée. Il est montré que le portage augmente avec la durée d'hospitalisation (**Clave, 2011**).

1.4.2. Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa est responsable de plusieurs types d'infections : infections pulmonaires : (la mucoviscidose, bactériémies), infections cutanées (primitives et secondaires), infections oculaires : (les kératites, les conjonctivites), infections urinaires (communautaires et nosocomiales).

Il existe d'autres types d'infections : infection de la sphère oto-rhino-laryngée (l'otite externe aigue, l'otite externe maligne, l'otite moyenne aigue, la polychondrite du pavillon, les sinusites), infections ostéo-articulaires, infections cardiaques, infections du système nerveux, infections du tube digestif (**Ariane 2017**).

1.5. *Staphylococcus aureus*

Rosenbach a fourni la première description taxonomique de *Staphylococcus* en 1884 lorsqu'il a divisé le genre en *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus albus*, bien que Pasteur et Ogston ont observé des bactéries sphériques dans le pus d'abcès 4 ans plus tôt (**Peacock 2006**). *S.aureus* parfois appelée staphylocoque doré est un coque Gram positif, ne sporule pas, immobile, aéro-anaérobie facultatif, et possède une catalase et une coagulase (**Anses 2011**), en amas et oxydase -. Les Staphylocoques sont rapidement différenciés des microcoques et apparentés par leur sensibilité aux furanes (**Clave, 2013**).

1.5.1. Habitat

L'habitat préférentiel de *Staphylococcus aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale ; d'autres sites peuvent être colonisés tels que le périnée, le vagin et la muqueuse digestive (**Clave, 2013**).

1.5.2. Pouvoir pathogène

Les infections suppuratives à différents niveaux : peau, tissus mous, muscle, os, tractus respiratoire, valve cardiaque, tractus urinaire. Et les toxi-infections (**Clave, 2013**).

2. Les souches bactériennes de référence

Les souches bactériennes de référence sont définies comme tout micro-organisme acquis à partir d'une collection de cultures reconnue. Elle constitue l'étalon qui permet de lui comparer d'autres souches.

Différents noms sont attribués aux souches de référence, dans diverses publications du CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) et de l'USP (United States Pharmacopeial). Il existe plusieurs désignations en fonction de l'organisation telle que: ATCC (American Type Culture Collection), et NCTC (National Collection of Type Cultures) (**Microbiology Clinic Web Site 2**)

3. Souche fongique

3.1. *Candida albicans*

Ce sont des éléments fongiques unicellulaires appelés blastospores (car leur bourgeonnement est de type blastique), ronds à ovalaires, bourgeonnant ou pas et produisant ou pas un pseudo filament (faux filament) ou un filament vrai. Ils présentent une paroi mince, une membrane cytoplasmique avec à l'intérieur une grande vacuole, un noyau (**Gazard et al., 2021**).

3.1.1. Habitat

Les levures du genre *Candida* sont ubiquitaires fréquemment isolées de l'environnement (air, sol, fruits, produits alimentaires, produits laitiers, céréales). Chez l'homme, elles colonisent de nombreux sites et vivent à l'état commensal au niveau des muqueuses digestives, aériennes supérieures et génito-urinaires, également sur le revêtement cutané. (**Gazard et al., 2021**).

3.1.2. Pouvoir pathogène

Les levures appartenant au genre *Candida* sont responsables de plus de 80 % des infections à levures chez les humains, et *Candida albicans* est impliqué dans 90 % des cas. Elle est également l'espèce la plus fréquemment associée aux candidoses digestives et génitales. (**Gazard et al., 2021**).



Chapitre II :
Résistance microbienne aux
antibiotiques

1. Antibiotiques

1.1. Généralités

Le terme antibiotique a été inventé à partir du mot « antibiose » qui signifie littéralement «contre la vie». Un antibiotique était à l'origine défini au sens large comme une substance produite par un micro-organisme ou d'origine biologique qui, à de faibles concentrations, peut inhiber la croissance d'autres micro-organismes ou être létale pour eux. Cependant, cette définition a été modifiée à l'époque moderne, pour inclure les antimicrobiens qui sont également produits partiellement ou entièrement par des moyens synthétiques (**Etebu et Ariekpar , 2016**).

Les antibiotiques peuvent être divisés en plusieurs classes en fonction de leur origine (naturelle ou synthétique), de leur structure (bêta lactamines, macrolides..), de leur effet contre les agents pathogènes (effet bactéricide ou bactériostatique) et de leur mécanisme d'action moléculaire contre les agents pathogènes (l'inhibition de la synthèse de la paroi) (**Upmanyu1 et al., 2020**).

Il a été observé que l'introduction et l'utilisation des antibiotiques dans les milieux cliniques ont deux effets opposés : premièrement, le rapide et souhaité est celui de l'inhibition de la croissance microbienne en ciblant les processus cellulaires essentiels et, deuxièmement, l'indésirable est l'émergence de la résistance antimicrobienne RAM. chez les pathogènes par élimination des variantes sensibles (**Vinay Kumar et al., 2022**).

1.2. Modes d'action des antibiotiques

Pour de nombreux antibiotiques, le mécanisme d'action n'est pas entièrement compris (**Etebu et Ariekpar , 2016**).Cependant, il est reconnu que la puissance antimicrobienne de la plupart des classes d'antibiotiques est dirigée vers une caractéristique unique de la structure bactérienne ou de leurs processus métaboliques et, qu'ils peuvent agir selon les mécanismes suivants (**Woodin et al., 2016**).

1.2.1. Inhibition de la synthèse de la paroi

- Par inhibition des enzymes de transpeptidation impliquées dans le montage des chaînes polysaccharidiques du peptidoglycane de la paroi bactérienne ou par activation des enzymes lyriques de la paroi. Exemples : Pénicillines G et V, membres du groupe des Pénicillines.

- Par fixation directe à la terminaison D-Ala-D-Ala des précurseurs et inhibe la transpeptidation. Exemple : Vancomycine. (**Dusart et Covette, 2008**)

1.2.2. Inhibition de la synthèse protéique

- Par fixation à la sous-unité 30S du ribosome pour inhiber directement la synthèse protéique et provoquer des erreurs de lecture de l'ARNm. Exemple : Néomycine, membre du groupe des aminoglycosides / Chlortétracycline, membre du groupe des tétracyclines.

- Par fixation sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome et inhibition d'élongation de la chaîne peptidique. Exemple : Érythromycine, membre du groupe des macrolides (**Dusart et Covette, 2008**).

1.2.3. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques

- Par inhibition de l'ADN gyrase et la topo-isomérase IV, de ce fait interfère avec la réplication de l'ADN et la transcription. Exemple : Norfloxacine, membre du groupe des quinolones.

- Par inhibition de la synthèse des ARN en se fixant sur et en inhibant l'ARN polymérase ADN dépendante. Exemple : rifamycine, membre du groupe des rifampine (**Dusart et Covette, 2008**)

1.2.4. Perturbation de la membrane cellulaire

- Par fixation à la membrane cytoplasmique et perturbation de sa structure et sa perméabilité. Exemple : Polymixine B (**Dusart et Covette, 2008**)

1.2.5. Antimétabolites

- Par l'interférence, par exemple, avec la synthèse de l'acide folique. Exemple : Dapsone (**Dusart et Covette, 2008**).

2. La résistance aux antibiotiques

2.1. Définition

La résistance à un antibiotique se produit lorsqu'un micro-organisme est capable de se développer ou de survivre en présence d'une concentration d'antibiotique qui est généralement suffisante pour inhiber ou tuer les organismes de la même espèce (**Sabtu et al., 2015**).

2.2. L'origine de la résistance microbienne aux antibiotiques

Contrairement à la croyance commune selon laquelle l'exposition aux antibiotiques est confinée à « l'ère des antibiotiques » moderne, la recherche a révélé que ce n'est pas le cas.

Des traces de tétracycline, par exemple, ont été trouvées dans des restes de squelettes humains d'anciennes Nubie soudanaise datant de 350 à 550 CE.

L'histoire naturelle des gènes de résistance aux antibiotiques peut être révélée grâce à la reconstruction phylogénétique et ce type d'analyse suggère la présence à long terme de gènes

conférant une résistance à plusieurs classes d'antibiotiques dans la nature bien avant l'ère des antibiotiques.

Par exemple, la phylogénie basée sur la structure de la sérine et des métallo- β -lactamases, a établi que ces anciennes enzymes sont apparues il y a plus de deux milliards d'années, certaines sérines β -lactamases étant présentes sur les plasmides depuis des millions d'années.

L'analyse phylogénétique similaire des β -lactamases dans les clones métagénomiques dérivés des sédiments «d'infiltration froide» vieux de 10 000 ans a indiqué que la majeure partie de la diversité de ces enzymes n'est pas le résultat d'une évolution récente, mais celle d'une évolution ancienne (**Rustam, 2010**).

2.3. Les types de la résistance aux antibiotiques

2.3.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle peut être intrinsèque (toujours exprimée dans l'espèce) ou induite (les gènes sont naturellement présents dans la bactérie, mais ne s'expriment à des niveaux de résistance qu'après exposition à un antibiotique). La résistance intrinsèque peut être définie comme un trait partagé universellement au sein d'une espèce bactérienne, indépendant de l'exposition antérieure aux antibiotiques et non lié au transfert horizontal de gènes. Les mécanismes bactériens les plus courants impliqués dans la résistance intrinsèque sont la perméabilité réduite de la membrane externe (plus précisément le lipopolysaccharide, LPS, bactéries à Gram négatif) et l'activité naturelle des pompes à efflux. Les pompes à efflux multidrogues sont également courantes mécanisme de résistance induite (**Wanda, 2018**).

2.3.2. La résistance acquise

L'acquisition de matériel génétique qui confère une résistance est possible par toutes les voies principales par lesquelles les bactéries acquièrent tout matériel génétique : transformation, transposition et conjugaison (transfert de gène horizontal à terme — HGT) ; de plus, la bactérie peut subir des mutations dans ses propres ADN chromosomique. L'acquisition peut être temporaire ou permanente. À médiation plasmidique la transmission de gènes de résistance est la voie la plus courante d'acquisition de matériel génétique extérieur ; la transmission par les bactériophages est assez rare. Certaines bactéries comme *Acinetobacter spp.* sont naturellement compétentes, et donc capables d'acquérir du matériel génétique directement du milieu extérieur. (**Wanda, 2018**).

2.4. Mécanismes moléculaires de la résistance aux antibiotiques

Les quatre mécanismes de résistance fréquemment rencontrés chez les bactéries à Gram négatif et positif sont:

2.4.1. Diminution de la perméabilité des membranes

Les porines, protéines hydrophiles des canaux transmembranaires, sont l'une des protéines les plus abondantes dans la membrane externe des bactéries Gram négatives (présentes également chez les bactéries Gram positives, mais moins abondantes) (Sharma *et al.*, 2022).

Les nombres de porines dans la cellule bactérienne peuvent être assez élevés, jusqu'à 106 copies par cellule, bien qu'en régulant l'expression des porines en réponse à l'action d'antibiotique, les cellules puissent dans une certaine mesure contrôler la perméabilité de leur membrane aux solutés, en réduisant le nombre de ses porines ou modifiant leur structure chimique, ce qui permet de réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action. (Fernandez et Hancock, 2012).

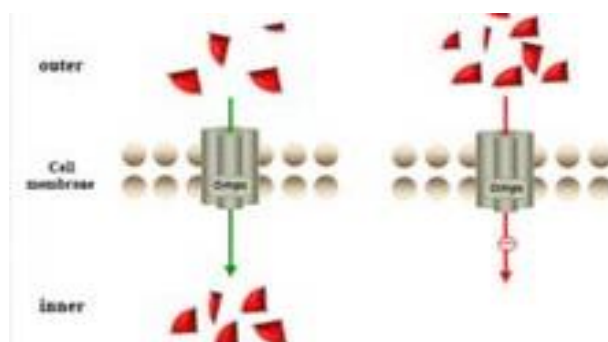


Figure 01 : perméabilité des membranes

2.4.2. Expulsion par les pompes à efflux

Les pompes à efflux sont des protéines de transport impliquées dans l'extrusion de substrats toxiques (y compris pratiquement toutes les classes d'antibiotiques pertinents) de l'intérieur des cellules vers l'environnement externe. Ces protéines se trouvent à la fois dans les Gram positifs et Gram négatif. Ces pompes peuvent être associées à une multirésistance aux antibiotiques (MDR) (peuvent transporter plusieurs antibiotiques de différentes classes). Ces systèmes utilisent la force motrice du proton comme source d'énergie, à l'exception de la famille ABC, qui utilise l'hydrolyse de l'ATP pour piloter l'exportation de substrats (Webber et Piddock, 2003).

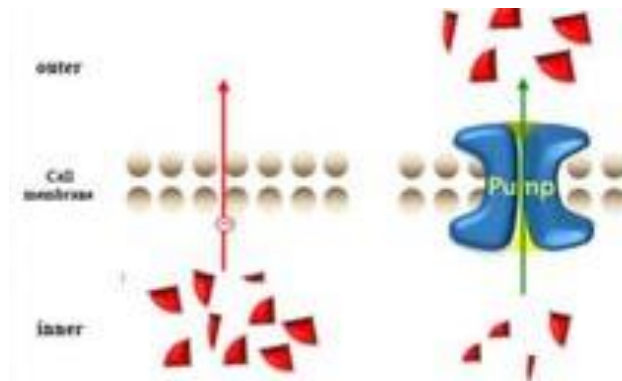


Figure 02 : pompe à efflux

2.4.3. Modification de la cible

La combinaison avec le site cible est nécessaire pour que les antibiotiques exercent un effet antibactérien, et toute mutation ou modification que le site cible subit affecte ainsi l'effet des antibiotiques.

Avec le grand nombre de bactéries et la vitesse de reproduction épouvantable, la mutation des gènes présentera en conséquence une fréquence élevée, ce qui permet aux bactéries d'acquérir rapidement une résistance aux antibiotiques grâce à l'évolution de la population et à la transmission horizontale des gènes (HGT) (Zhang et Cheng, 2022).

➤ Quelques exemples de ce mécanisme de résistance: (Carle, 2009)

- Altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) aussi connues sous PBP (Penicillin Binding Protein).
- Altération des sites de liaison ribosomiaux.
- Altération de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase.
- Altération des précurseurs cibles de la paroi cellulaire bactérienne.
- Altération des enzymes cibles.

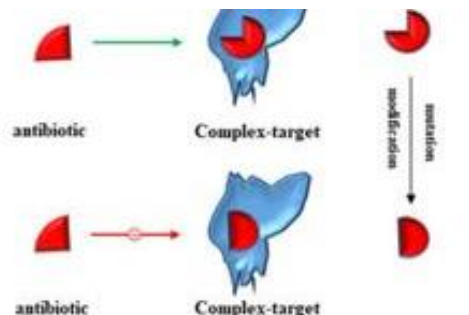


Figure 03 : Modification de la cible

2.4.4. Inactivation enzymatique

Les bactéries produisent plusieurs enzymes qui peuvent hydrolyser ou modifier les antibiotiques entrant dans la cellule pour les rendre inactifs avant d'atteindre le site cible.

L'enzyme va modifier le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, qui ne s'inverse pas facilement dans des conditions physiologiques normales, empêchant la fixation de l'antimicrobien sur sa cible, provoquant une perte d'activité. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes : des hydrolyses, des acétylations, des phosphorylations, des nucléotidylations, des estérifications, des réductions et des réactions d'addition d'un glutathion. (Pascale et Wright, 2010).

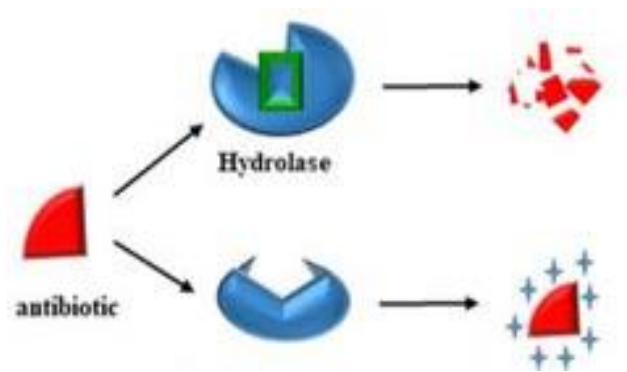


Figure 04 : Inactivation enzymatique



Chapitre III
Myrtus communis L.
et huiles essentielles

I. *Myrtus communis L.*

1. Présentation de la plante

Myrte (Myrtus communis L.), est un arbuste vivace annuel à fleurs et à feuilles persistantes aromatiques et aussi producteur de fruits (**Hamrouni et al., 2011 ; Syeda et al., 2012 ; Karzan et al., 2017 ; Ozan, 2017**) appartenant à la famille des Myrtacées qui comprend 130-140 genres et environ 4000 – 5671 espèces poussant dans les régions tempérées, tropicales et subtropicales (**Villarroel et Kadja, 2015 ; Karzan et al., 2017**).

Cette plante est indigène tout autour des îles et du bassin méditerranéen. En Algérie, *M. communis L.* est présent dans l'Atlas tellien et dans les régions côtières d'Alger et dans la wilaya de Constantine où elle est connue sous les noms de "rihan" ou mersin (**Bouzabataa et al., 2013**).

M. communis L. a également une longue histoire dans la médecine alternative traditionnelle. Depuis l'antiquité, elle est utilisée par le grand public en raison de ses nombreuses propriétés bénéfiques, notamment ses qualités antimicrobiennes, antifongiques, antiseptiques et anti-inflammatoires, ainsi que ses effets insecticides et cicatrisants (**Cottiglia, 2011 ; Ozan, 2017**).

Les espèces de *Myrtus* ont été signalées comme très riches en huiles volatiles, en acides phénoliques (comme les acides gallique et ellagique), en acides gras (AG), en tanins, en pigments anthocyaniques, (**Mahmoud et al., 2010**), en flavonoïdes (tels que la quercétine, la catéchine) et des dérivés de myricétine (**Hamrouni et al., 2011**). La composition chimique de l'huile de myrte variait en raison de plusieurs facteurs environnementaux et génétiques. Les huiles essentielles de *M. communis L.* d'Algérie contiennent du α -pinène et du 1,8 cineole comme composants principaux (**Mohamadi et al., 2021**).

2. Dénominations internationales (**Goetz et Ghedira, 2012**)

Français : herbe du lagui, myrte commun.

Anglais: common myrtle, Greek myrtle, myrtle, sweet myrtle.

Allemand : Braut-Myrte, Brautmyrte, Gewöhnliche Myrte.

Néerlandais : Mirt.

Espagnol : arrayán, mirto, murta, murt.

Italien : mirtella, mirto, mortella, mortin.

Arabe : arrayhan, الريحان, A'as, أس

3. Situation botanique de l'espèce *Myrtus communis* L. (Goetz et Ghedira, 2012)

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous embranchement	Magnoliophytina
Sous classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>Myrtus communis</i> L.

4. Description botanique

Myrtus communis est un arbrisseau sclérophylle (Aleksic et Knezevic., 2014) à tige dressée (Mahmoud et al., 2010 ; Gugliuzza et al., 2015) et ligneuse qui reste vert tout au long de l'année (Franceschini, 2016). Il mesure de 1 à 3 mètres de hauteur (Franceschini, 2016 ; Karzan et al., 2017). Le myrte se caractérise par ses branches, qui forment une tête pleine et fermée, recouverte d'une épaisse couche de feuilles (Mahmoud et al., 2010 ; Aleksic et al., 2014).

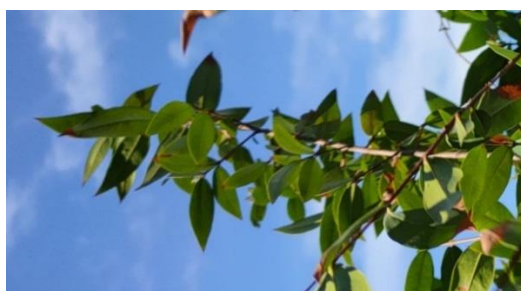


Figure 05 : Branche de *Myrtus communis*. L (Prise personnelle)

Le myrte commun possède des feuilles persistantes, opposées et subsessiles. Ses feuilles sont coriaces, luisantes, de forme ovales et lancéolées (Mahmoud et al., 2010 ; Franceschini, 2016). Elles mesurent entre 3 et 5 mm de long et 4 à 11 mm de large (Aleksic et Knezevic, 2014).

Cette espèce est une plante très aromatique en raison de la forte teneur en huile essentielle de ses glandes foliaires, florales et fruitières (Aleksic et Knezevic, 2014), chaque feuille possède sur son épiderme un grand nombre de cavités sécrétoires qui jouent un rôle important dans la sécrétion de l'huile essentielle (Frances chini, 2016).



Figure 06 : Feuilles de *Myrtus communis*. L (Prise personnelle)

Les fleurs sont parfumées solitaires axillaires blanches ou roses (Mahmoud et al., 2010 ; Aleksic et Knezevic, 2014 ; Gugliuzza et al., 2015). Hermaphrodites, actinomorphes et elles font jusqu'à 3 cm de diamètre (France schini, 2016).



Figure 07: Les fleurs de *Myrtus communis*. L (journal le monde)

Le fruit est une baie sphérique bleu rougeâtre à violette (Aleksic et Knezevic, 2014 ; Karzan et al., 2017).



Figure 08 : Baies de *Myrtus communis*. L (Physio Sahifa, 2016)

5. Domaines d'utilisations du *Myrtus communis*. L

5.1. Utilisation traditionnelle

Myrtus communis. L a été utilisé dans la médecine traditionnelle pour soulager certains maux (Hennia et al., 2018).

Différentes parties de la plante, telles que les baies, les branches et les feuilles, ont été utilisées pour traiter la diarrhée et les ulcères (Hennia et al., 2018).

L'extrait aqueux des feuilles et des rameaux de la plante est utilisé pour traiter le diabète sucré (Elfellah et al., 1984).

Dans les pratiques traditionnelles, une décoction des fruits était utilisée pour baigner les nouveau-nés présentant une peau rougie, tandis qu'une décoction des feuilles et des fruits était utilisée pour soulager les douleurs. La décoction des feuilles est encore utilisée aujourd'hui pour les lavages vaginaux, les lavements et contre les affections respiratoires (Sumbul et al., 2011).

Les fruits mûrs étaient utilisés par les fabricants de compléments alimentaires en raison de leur teneur élevée en vitamines (Sumbul et al., 2011).

Dans l'Égypte ancienne, l'huile essentielle de *Myrtus communis*.L était utilisée dans le processus d'embaumement en raison de ses effets antimicrobiens qui assuraient une conservation pratiquement infinie du corps (Bakkali et al., 2007 ; Bouzabata 2017).

5.2. Utilisation récente

• En médecine

- L'huile essentielle des feuilles de *Myrtus communis* L. est utilisée en Algérie pour soulager les troubles respiratoires et urinaires. Les remèdes à base de cette plante sont recommandés pour lutter contre les bronchites, sinusites, otites, diarrhées et hémorroïdes. Les fruits sont considérés comme

efficaces dans le traitement de la dysenterie, l'entérite et les hémorragies. (Goetz et Ghedira, 2012).

- La plante est fréquemment utilisée pour traiter diverses affections telles que l'ulcère gastrique, la dysenterie, les vomissements, les hémorragies, la leucorrhée (Sumbul et al., 2011).

- Les baies sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques, astringentes, carminatives, des séchantes, etc. (Sumbul et al., 2011).

- Actuellement, la décoction de feuilles continue d'être utilisée pour les lavements et pour traiter les affections respiratoires (Syeda et al., 2012) ainsi que le traitement des problèmes d'estomac (Estevão Salvagnini et al., 2008).

- Une étude récente a mis en évidence que la myrtucommulone, un composé isolé des feuilles de myrte, induit la mort cellulaire apoptotique dans différentes cellules cancéreuses avec une faible cytotoxicité (Bouzabataa et al., 2013).

• En industrie agroalimentaire

- Les propriétés antifongiques et antibactériennes de *Myrtus communis* L sont utilisées pour la conservation des aliments (Satrani et al., 2006).

- Les feuilles de *Myrtus* sont utilisées pour aromatiser la viande et les sauces.

- Les baies de *Myrtus* sont utilisées dans la fabrication de liqueurs.

- La fumée de Myrte est utilisée pour aromatiser certains aliments.

- La plante peut protéger contre la peroxydation lipidique des aliments, contribuant ainsi à leur préservation (Sumbul et al., 2011).

• En Cosmétologique et parfumerie

- l'huile essentielle de *Myrtus communis* L est utilisé pour contrôler la chute des cheveux (Sumbul et al., 2011) et pour les soins du cuir chevelu (Gauthier et al., 1988).

- La plante est utilisée dans la fabrication de parfums, de savons et de produits de soin de la peau (Satrani et al., 2006).

II. Les huiles essentielles

1. Définition

Les huiles essentielles sont des liquides huileux donc de nature hydrophobe, volatiles, concentrés, caractérisés par une forte odeur. Elles sont généralement peu colorées et ont une densité inférieure à celle de l'eau. Ces huiles essentielles sont produites par les plantes médicinales aromatiques (PMA) en tant que métabolites secondaires. Elles proviennent de diverses parties de la plantes comme les fleurs, les bourgeons, les graines, les feuilles, les branches, l'écorce, le bois, les fruits et les racines. Elles sont stockées dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires (**Bakkali et al., 2008**).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.) (**Boughendjioua, 2015**).

Le mot « huile » souligne le caractère visqueux et hydrophobe cependant, le mot «essentielle» se comprenant comme étant le caractère principal de la plante (**Iazzourene, 2015**).

Selon la Pharmacopée européenne, une huile essentielle est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur, par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. »

En 2008, on recensé environ 3000 huiles essentielles, parmi lesquelles 300 revêtent une importance commerciale notable, notamment dans les domaines de l'industrie pharmaceutique, agronomique, alimentaire, sanitaire, cosmétique et parfumerie (**Bakkali et al., 2008**).

2. Rôles des huiles essentielles dans la nature

Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes ayant des qualités antibactériennes, antivirales, antifongiques, insecticides et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour ces plantes. De plus, elles ont la capacité d'attirer certains insectes pour faciliter la dissémination des pollens et des graines, tout en repoussant d'autres insectes indésirables (**Bakkali et al., 2008**).

3. Procédés d'extraction des huiles essentielles

3.1. L'expression à froid

C'est un procédé d'extraction très simple mais aussi très limité. Il est principalement utilisé pour les écorces d'agrumes. Cette opération mécanique vise à casser les molécules qui contiennent l'essence dans les zestes des agrumes frais. Dans ce cas, on utilise le terme "essence" plutôt que huile essentielle (**Moro Buronzo, 2008**)

3.2. Hydrodistillation

Elle consiste à émerger directement la matière végétale à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes sont condensées sur la première surface et les huiles essentielles sont séparées par différences de densité (**Boukhatem et al., 2019**).

3.3. Distillation à la vapeur

Le matériel végétal est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau saturée. Cette vapeur endommage la structure des cellules végétales, libérant ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode améliore la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques car le matériel végétal ne se trouve pas directement dans l'eau bouillante (**Boukhatem et al., 2019**).

3.4. Hydro-diffusion ou la percolation

C'est une méthode également récente, qui fonctionne à l'inverse de la distillation. En effet, on injecte la vapeur d'eau de haut en bas, au lieu de bas en haut. Cette méthode a l'avantage d'être plus rapide et par conséquent, moins susceptible de transformer la qualité des huiles essentielles recueillies. Les substances obtenues sont chargées en composants non volatils, on parle alors dans ce cas d'essences de percolation et non d'huiles essentielles (**Piochon, 2008**).

3.5. Autres méthodes

- Hydrodistillation par micro-ondes sous vide.
- L'enfleurage
- Extraction par solvant.
- Extraction au CO₂ supercritique

4. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de variables constituants qui appartiennent à deux catégories : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part (Bruneton, 1995) ainsi que des composés d'origine diverses. Cette étude effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Salzer, 1977).

La majorité des HE est composée de 3 ou 4 molécules majoritaires et de très nombreuses molécules minoritaires, la teneur de ces composés diffère également selon différents facteurs intrinsèques : conditions climatiques, la nature du sol, la partie de la plante concernée..., et des facteurs extrinsèques, liés à la méthode d'extraction choisie (Besombes, 2008).

Dans les huiles essentielles des feuilles de myrte Algérien et quelle que soit la méthode d'extraction utilisée, l' α -pinène et le 1,8-cinéole sont les principaux composants (Berka Zougali et al., 2010 et 2012 ; Brada et al., 2012 ; Bouzabata et al. 2013a, et 2013b), on constate les mêmes similitudes avec le myrte Tunisien (Aidi Wannas et al., 2009), le myrte Français (Chalchat et al., 1998), ainsi qu'au myrte Corse (Bouzabata, 2015).

Selon Mohamedi et al., 2021 les composants minoritaires de *Myrtus communis L.* d'Algérie sont le limonène, l'acétate de myrtényle, le méthyl eugénol et le linalol avec des valeurs différentes selon la zone de récolte.

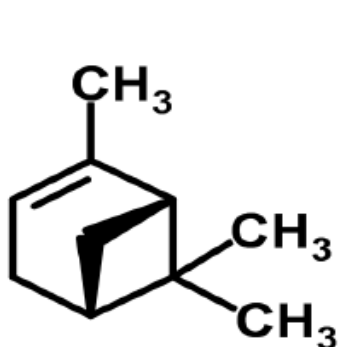


Figure 09 : Structure of α -Pinene

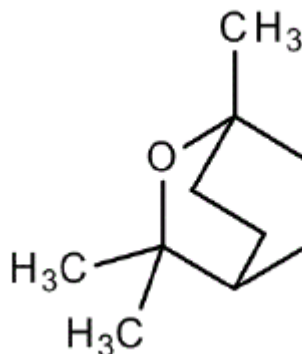


Figure 10 : Structure of 1,8-Cineole

5. Mécanisme d'action

En général, les mécanismes de l'action antimicrobienne des huiles essentielles sont décrits en trois phases (Ultee *et al.*, 2002 ; Turina *et al.*, 2006).

1- Premièrement, les HES peuvent agir sur la paroi cellulaire d'une bactérie et augmentent la perméabilité de la membrane, ce qui entraîne une perte subséquente des composants cellulaires.

2- La seconde phase correspond à une acidification à l'intérieur de la cellule qui bloque la production d'énergie cellulaire (ATP) en raison de la perte d'ions, de l'effondrement des pompes à protons et de la réduction du potentiel membranaire.

3- Dernier point mais non le moindre c'est la destruction du matériel génétique qui va entraîner la mort des bactéries.

De plus, certaines études ont montré que les HES peuvent également coaguler le cytoplasme et endommager les lipides, les protéines, les parois cellulaires et les membranes, ce qui peut entraîner la fuite des macromolécules et la lyse cellulaire. (Gustafson *et al.*, 1998 ; Cox *et al.*, 2000 ; Lambert *et al.*, 2001 ; Di Pasqua *et al.*, 2006 ; Turgis *et al.*, 2009 ; Saad *et al.*, 2013). Les HES peuvent aussi inhiber la synthèse d'ADN, l'ARN, et des polysaccharides (Cox *et al.*, 1991).

Cependant, les mécanismes restent moins clairs et leur complexité vient du type de micro-organismes ciblés et des caractéristiques des composants actifs d'huile essentielle.

En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis-à-vis des huiles essentielles. Dans le cas des bactéries par exemple, les bactéries Gram - sont caractérisées par la présence d'une membrane plasmique hydrophile externe qui empêche la pénétration intracellulaire des terpènes hydrophobes composants la majorité des huiles essentielles, cette caractéristique confère aux bactéries Gram - une résistance à l'huile et même aux antibiotiques, par contre chez les bactéries Gram + qui sont dépourvues de cette structure hydrophile (Lewis *et Ausubel*, 2006). Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries Gram - (Malecky, 2007)

Le principal composant de *Myrtus communis L.* en Algérie : α -pinène déploie une action remarquable en inhibant les pompes d'efflux microbiennes, altérant ainsi l'intégrité de la membrane et le métabolisme des micro-organismes (Jasna Kovač *et al.*, 2015). De plus, il présente une propriété inhibitrice efficace de la formation de biofilm chez *Candida albicans* (Da Silva *et al.*, 2012). L'alpha-pinène démontre ainsi sa capacité à perturber les processus essentiels des micro-

organismes, tant au niveau de leur fonctionnement interne que de leur capacité à former des structures protectrices telles que les biofilms.

6. Activités biologiques

Diverses recherches ont été consacrées à l'étude des activités biologiques des extraits et des huiles essentielles de myrte.

6.1. Activité antimicrobienne

La majorité des études se sont concentrées sur l'évaluation du pouvoir antibactérien et antifongique de l'huile essentielle (HE) extraite principalement des feuilles.

6.1.1. Activité antibactérienne

Les effets de l'huile essentielle de myrte sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif ont été étudiés dans plusieurs travaux. Les recherches menées par (Owlia et al., 2009) et ses collègues ont révélé que les bactéries à Gram positif étaient plus sensibles à l'huile essentielle de myrte que les bactéries à Gram négatif.

Les travaux réalisés par (Rosato et al., 2007; Akin et al., 2010) ont démontré que l'huile essentielle de *M. communis L.* possède une activité inhibitrice contre huit bactéries pathogènes, tant gram positives que gram négatives. Ces bactéries comprennent *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus durans*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*.

6.1.2. Activité antifongique

Mahboubi et Bidgoli (2010) ont examiné l'efficacité antifongique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Myrtus L.* contre différentes souches de *Candida albicans* et diverses espèces d'*Aspergillus*. Ils ont également évalué l'effet synergique de cette huile essentielle en combinaison avec l'amphotéricine B, un composé antifongique. Les résultats de leur étude ont démontré que l'huile de myrte présentait une activité antifongique satisfaisante contre les champignons. De plus, ils ont observé une activité antifongique significative lorsque l'huile de myrte était associée à l'amphotéricine B.

6.2. Activité antiviral

Dans leur étude, Azimi et Hashemi nasab (2020) ont démontré l'efficacité de *Myrtus communis L.* en tant qu'agent antiviral puissant, offrant une utilité particulière dans les premiers stades de la pneumonie COVID-19. De plus, ses propriétés anti-inflammatoires peuvent contribuer à réduire la tempête de cytokines. L'utilisation de l'extrait de *Myrtus communis L.* peut être

recommandée pour le traitement de la pneumonie, notamment lorsque celle-ci est accompagnée de symptômes tels que la toux et la diarrhée.

6.3. Activités anti-inflammatoires

En 2005, Feisst et al pour la première fois des recherches plus approfondies sur les feuilles de *Myrtus communis L.* Ils ont réussi à isoler deux oligomères uniques à partir de ces feuilles, à savoir la myrtucommulone et la S-MC, qui sont des acylphloroglucinols non prénylés (Graça Miguel, 2010).

L'effet anti-inflammatoire des huiles essentielles peut être attribué à leur capacité à se lier aux radicaux libres produits par les neutrophiles, ainsi qu'elles agissent en bloquant la formation et/ou la sécrétion de médiateurs de l'inflammation tels que l'histamine, les cytokines pro-inflammatoires, les facteurs de transcription, les prostaglandines, les leucotriènes et l'oxyde d'azote. S (Inouye et Abe, 2007).

6.4. Activités antioxydante

Le pouvoir antioxydant de *Myrtus communis L.* est principalement attribué aux composés phénoliques contenus dans ses extraits, selon une étude menée par (Medda et Mulas, 2021).

En effet, les baies et les feuilles contiennent des polyphénols tels que les flavonoïdes et les anthocyanes, qui ont une capacité antioxydante et une capacité de piégeage des radicaux libres élevées, comme l'ont relevé (Giamperi et al. 2020)

Des études ont prouvé que l'utilisation topique et l'ingestion de l'extrait éthanolique de *Myrtus communis L.* diminue significativement les dommages oxydatifs cutanés dus aux brûlures chez les rats (Ozcan et al., 2020).

De plus, l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* possède des propriétés antioxydantes importantes grâce à sa capacité à piéger les radicaux ABTS ainsi qu'à son pouvoir réducteur (Odeh et al., 2022)

6.5. Activités anti- diabétique

Une étude réalisée en 2004 par Sepici et al a mis en évidence une activité hypoglycémiante de l'huile essentielle de feuille de myrte chez le lapin, qu'il soit normal ou diabétique à l'alloxane.

En 2015, Issa et Bule ont mené une étude sur l'effet anti-diabétique de *Myrtus communis L.* en administrant des extraits de cette plante par voie orale à des souris chez lesquelles le diabète avait été induit par l'alloxane. Les doses uniques administrées étaient de 500, 750 et 1000 mg/kg de poids corporel. L'extrait aqueux de *Myrtus communis L.* a montré une diminution significative de la

glycémie moyenne des souris diabétiques à la dose de 500 mg/kg, atteignant 61,8 % à la cinquième heure. De même, l'extrait méthanolique de *Myrtus communis L.* a provoqué une baisse significative de la glycémie moyenne de 48 % à une dose de 1000 mg/kg.

6.6. Activités anticancéreuse

Une étude réalisée par **Muller et al., (2010)**, a démontré que la myrtucommulone induit la mort cellulaire par apoptose dans différentes cellules cancéreuses, tout en présentant une faible cytotoxicité pour les cellules non transformées.

La myrtucommulone (MC), qui est un acylphloroglucinol unique et non prénylé, présent dans les feuilles de myrte, provoque l'apoptose dans les différentes lignées cellulaires cancéreuses. Cependant, il montre une cytotoxicité marginale envers les cellules non transformées. Ce mécanisme d'apoptose est activé par la voie mitochondriale impliquant le cytochrome c/Apaf-1/caspase-9 (**Tretiakova et al., 2008**).

6.7. Activités anti-ulcère

Sambul et al., (2011) ont démontré que l'administration orale d'une faible dose d'extrait aqueux et une forte dose d'extrait méthanolique de *Myrtus communis L.* ont un effet plus significatif par rapport à l'omeprazole (médicament standard) dans le modèle d'ulcère induit par l'éthanol. Les extraits aqueux et méthanoliques ont également réduit le volume du suc gastrique, l'acidité totale et augmenté le pH gastrique et la teneur en mucus de la paroi gastrique dans tous les modèles d'ulcères utilisés dans la présente étude.

7. La toxicité des huiles essentielles

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldehyde) ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines (**Smith et al., 2000**)). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique (**Piochon, 2008**).

Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (**Homburger et Boger, 1968**).



Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel non biologique

Le tableau ci-dessus représente toutes le matériel utilisé dans se travail :

Tableau 1 : Materiel non biologique

Appareillage :	Verreries et autres :	Réactifs et solutions :
Bec Bunsen	Tubes à essai	Eau distillé stérile
Bain marie	Pipettes Pasteur	Eau physiologique
Étuve	Boîtes de Pétri (90 mm et 60 mm)	Tween
Autoclave	Ampoule à décantation	Bouillon Mueller Hinton
Réfrigérateur	Écouvillons	Bouillon Sabouraud
Appareil d'hydrodistillateur alambic 304	Anse de platine	Bouillon Nutritif
	Pinces	Milieux de culture (Chapman, Hektoen, Sabouraudet Mueller Hinton)
	Papier Whatman	Fuschine
	Lame et lamelle	Lugol
	Micropipette	Violet de Gentiane
	Embouts	Alcool
	Seringue	Bleu de Méthylène
		L'huile d'immersion
		Galerie classique
		Les antibiotiques

1.2. Matériel biologique

1.2.1. Matériel végétal

Une plante à la vertu médicinale a été utilisée dans ce travail, il s'agit du *Myrtus comminus L.* (le myrte)

a. Critères de choix de la plante

- Représentant typique et originaire du bassin méditerranéen.
- Plante annuelle à feuilles persistantes.
- Plante largement utilisée dans la médecine folklorique à base de plante, depuis les temps anciens (occupe une place prépondérante dans les écrits des grecs, des romains et des arabes).
- Plante aromatique à une huile essentielle ayant des activités antimicrobiennes déjà décrites dans des travaux antérieurs.
- Le myrte est une plante qui a joué un rôle important dans les traditions et les mythes enregistrés des peuples du monde entier, anciens et modernes.

b. Identification botanique de l'espèce de *M.communis* L.

L'identification de l'espèce de la plante étudiée dans ce travail de recherche, a été fait par le chimiste de le laboratoire BioVerma M.Souilah, qui a dit il n'y a qu'une seule espèce de *Myrtus* au nord d'Algérie : *Myrtus communis* L. Mme. Sakhraoui, docteur en Botanique (Université de 20 Août 1955, Skikda- Département SNV) nous a confirmé cette information aussi.

c. Récolte

Les feuilles de notre plante ont été récoltées durant le mois de juin 2022 au niveau de la région de Tamalous la wilaya de Skikda. Elles ont été fournies par le laboratoire BioVerma (Cheraïa, Skikda) de M.Billal Souilah, où elles ont été identifiées et séchés.

Les paramètres géographiques de la région de récolte sont représentés dans (**Tableau 02**)

Tableau 02: Les paramètres géographiques de la région de récolte

Station	Tamalous
Wilaya	Skikda
Latitude	36° 50' 10" Nord
Longitude	6° 38' 30" Est
Altitude	62 m
Zone Climatique	Climat Méditerranéen



Figure 11 : Localisation du site de récolte. (Site Web 4)

d. Séchage

Les feuilles fraîches ont été d'abord très bien lavées avec de l'eau distillée, pour éliminer les microorganismes normalement trouvés à la surface et ont été séchées dans l'obscurité, à l'abri d'humidité et à température ambiante pendant 15 jours.



Figure 12 : Feuilles de *Myrtus communis* L. (Prise personnelle)

a : Plante, b : Récolte, c : Feuilles Fraiches, d : Feuilles séchés

1.2.2. Microorganismes testées

Dans notre étude, 5 souches bactériennes souvent résistantes aux antibiotiques d'origine clinique et 2 souches de référence ATCC ont été testé pour évaluer l'activité antibactérienne de

Matériel et méthodes

l'huile essentielle, alors que pour l'évaluation de l'activité antifongique, une seule souche clinique a été testé.

Elles ont été pré-identifiées au niveau du Laboratoire d'analyses médicales privé "Al Amal" de Dr. Bendjamaa Ali (Skikda). Ces souches ont été choisies selon une recherche bibliographique préalable.

Ce travail a été effectué au laboratoire de microbiologie de l'EPH Laieb el Darradji à El Harrouch, dans lequel nous avons réalisé un ensemble d'analyses microbiologiques et biochimiques sur les différentes souches fournies par laboratoire Al Amal (Skikda)

Le tableau 03 montre l'origine de chaque souche microbienne sélectionnée.

Tableau 03 : Origine des différentes souches microbiennes testées

Souches microbiennes	Gram	Famille	Nature de prélèvement
Souches bactériennes de référence :			
<i>Escherichia coli</i> ATCC	négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>	Institut Pasteur
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	positif	<i>Staphylococcaceae</i>	Institut Pasteur
Souches bactériennes cliniques :			
<i>Escherichia coli</i>	négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>	Urinaire
<i>Staphylococcus aureus</i>	positif	<i>Staphylococcaceae</i>	Urinaire
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>	Urinaire
<i>Enterobactercloacae</i>	négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>	Urinaire
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	négatif	<i>Pseudomonadaceae</i>	Pus
Levure			
<i>Candida albicans</i>		<i>Saccharomycetaceae</i>	Vaginal

➤ Conservation des souches

Les souches microbiennes fournies par le laboratoire de Dr. Bendjamaa ont été conservées à + 4 °C, les souches cliniques dans une boîte Pétri contenant le milieu CHROMagar, et les souches ATCC dans des tubes stériles contenant 5 ml de bouillon de conservation, et la levure dans une boîte de Pétri de milieu Sabouraud.

➤ 2. Méthodes

La figure 13 représente un résumé des méthodes suivies dans cette étude

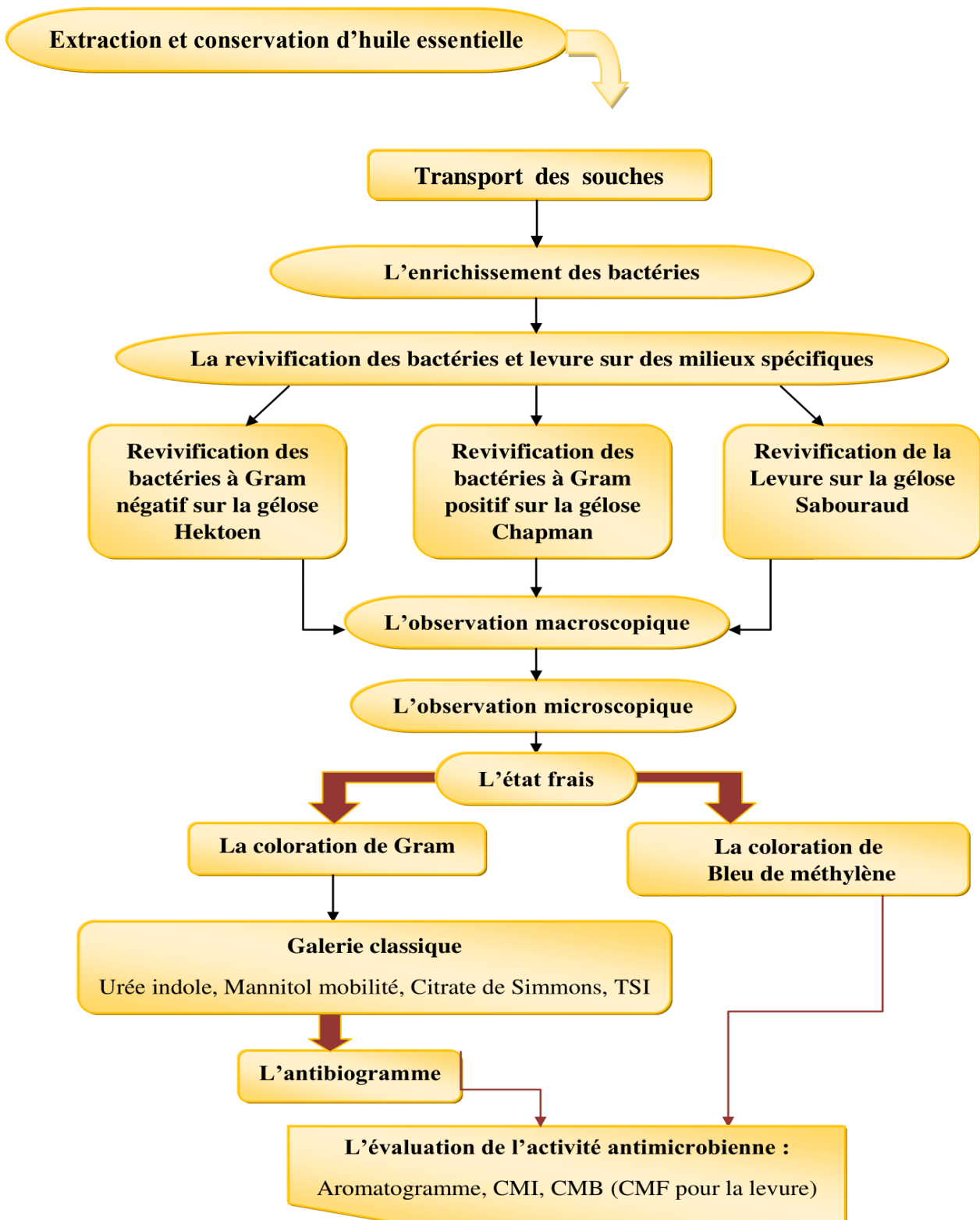


Figure 13 : Diagramme récapitulatif de la procédure expérimental

2.1 Extraction et conservation d'huile essentielle

L'huile essentielle utilisée au cours de notre étude a été extraite seulement des feuilles de *Myrtus communis* L. L'extraction a été effectuée par entraînement à la vapeur par appareil de type Alambic inox alimentaire 304.

2.1.1. Protocole d'extraction d'huile

Extraction par hydro distillateur Alambic inox alimentaire 304

Cette méthode est appelée aussi distillation à l'eau et à la vapeur ou "vapo-hydro distillation".

- Le fond de l'appareil est rempli d'eau. (20 L).
- 8 kg de la matière végétale sèche sont placés sur une grille d'acier inoxydable d'une manière à ne pas être en contact avec l'eau.
- L'alambic est chauffé directement avec le gaz pendant une heure et demie.
- L'eau bout et forme de la vapeur. La vapeur d'eau entraîne les composés volatils des feuilles.
- Elle détruit également la structure des cellules végétales ce qui libère les molécules olfactives.
- La vapeur chargée en huile essentielle se condense ensuite dans le condenseur.
- Le mélange de l'hydrolat et d'huiles essentielles est obtenu à la sortie du refroidisseur et versé dans une bouteille en verre.
- L'huile essentielle moins dense que l'eau surnage à la surface de l'hydrolat.
- À l'aide d'une pipette, la couche d'huile essentielle (encore mélangée un peu avec l'hydrolat) est récupérée.
- L'ampoule à décanter permet de récupérer l'huile essentielle pure.

2.1.2. Conservation

L'huile essentielle pure est ensuite récupérée et conservée au réfrigérateur (+ 4°C) dans un flacon sombre afin de la préserver de la lumière et de la chaleur (Chebaibi et al., 2016).



Figure 14 : Préparation de l'extrait d'huile essentielle (**Prise personnelle**)



Figure 15: L'appareil d'extraction (Alambic inox alimentaire 304) (**Prise personnelle**)

2.3. Détermination du rendement de l'huile essentielle

- La quantité d'huile obtenue est pesée pour le calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle en gramme (g) obtenue et la masse de matière végétale sèche en gramme (g). Il est calculé par l'équation suivante : (**Chantal et al., 2015**)

$$RHE = \frac{MHE}{MV} \times 100$$

RHE : le rendement en huile essentielle en (%).

MHE : la masse d'huile essentielle en (g).

MV : matière végétale en (g).

2.4. Enrichissement et revivification des souches

2.4.1. Enrichissement des bactéries

Les souches bactériennes conservées ont été cultivées dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon nutritif, puis elles ont été incubées à l'étuve pendant 24 h à une température de 37°C.

2.4.2. Revivification des souches microbiennes

L'objectif de la revivification est l'obtention d'une culture jeune et pure. Pour ce faire, un processus spécifique est suivi. Tout d'abord, une goutte de bouillon de la souche enrichie est ensemencée en stries dans un milieu spécifique qui a été préalablement coulé et solidifié dans des boîtes de Pétri. Différents milieux sont utilisés en fonction du type de microorganisme : la gélose de

Chapman est utilisée pour les bactéries Gram positives, l'Hektoen pour les bactéries Gram négatives et la gélose de Sabouraud pour la levure.

Une fois que les boîtes de Pétri ont étéensemencées, elles sont placées dans une étuve à une température de 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, et à une température de 25 °C pendant 48 heures, voire jusqu'à 5 jours, pour la levure. Pendant cette période d'incubation, les microorganismes se développent et forment des colonies distinctes sur la gélose. (**Djadi et al., 2014**).

2.5. Identification des souches

2.5.1. Observation macroscopique

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. Il s'agit d'un examen à l'œil nu et permet l'étude des caractéristiques des espèces (la taille, la forme, la couleur). L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé de la durée et de la température de l'incubation.

Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées : les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées.

2.5.2. Observation microscopique

A. Examen direct à l'état frais

1. Principe

Une méthode microbiologique rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension de microorganismes vivants sans fixation préalable par la chaleur ou l'alcool. Il permet alors d'observer : la forme des cellules, leur mode de groupement, leur mobilité et le nombre approximatif des bactéries par champ microscopique. Toutes ces informations définissent la morphologie bactérienne ce qui constituent les premières critères d'identification (**Denis et al., 2016**).

2. Mode opératoire

La manipulation a été effectuée de manière aseptique près du bec Bunsen à partir d'une culture sur milieu solide.

- On dépose une gouttelette d'eau stérile sur une lame propre et exempte de toute contamination.
- On prélève une fraction de colonie à l'aide d'une pipette pasteur stérile et la déposé sur la lame à côté de la gouttelette d'eau.
- L'émulsion de l'échantillon dans la gouttelette d'eau a été effectuée délicatement jusqu'à l'obtention d'une suspension microbienne homogène.
- La suspension a été puis recouverte avec une lamelle en évitant la formation des bulles d'air car cela pourrait entraver l'observation au microscope.

- Il est recommandé de ne pas prolonger l'observation au-delà de 3 à 10 minutes. Au-delà de cette période, les micro-organismes peuvent subir des changements ou mourir, ce qui peut altérer les résultats de l'observation.
- Le liquide ne doit pas déborder de la lame, si cela se produit il est préférable de rejeter la lame et de recommencer le processus avec une nouvelle préparation.
- L'observation a été effectuée à l'aide d'un microscope optique à un grossissement $\times 40$ à faible lumière.

B. Coloration de Gram

C'est la coloration de référence en bactériologie. Le processus a été fait selon le protocole de **(Denis et al., 2016)**.

1. Mode opératoire

1.1. Fixation du frottis

- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on dépose une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre.
- Ensuite on prélève une colonie bien isolée avec l'anse de platine et la dissocie dans la goutte.
- On passe la lame dans la petite flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

1.2. Procédure de coloration

- On dépose quelques gouttes de solution de violet de Gentiane sur le frottis fixé et laisser agir pendant 1 minute (Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries).
- On rince avec de l'eau de robinet et éliminer l'excès.
- On recouvre de Lugol et laisser agir pendant 1 minute.
- On rince avec de l'eau et éliminer l'excès.
- On décolore à l'alcool (la durée de la décoloration dépend de l'épaisseur du frottis).
- On stoppe la décoloration par un nouveau rinçage à l'eau.
- On fait une contre-coloration avec la Fuschine pendant 1 minute.
- On rince avec de l'eau.
- On laisse la lame sécher à l'air.
- On place une goutte d'huile à immersion sur la lame.
- On examine à l'aide d'un objectif à immersion (100 x).

Les bactéries à Gram positif doivent apparaître colorées en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

C. Coloration au bleu de méthylène pour *Candida albicans*

1. Principe

La coloration au bleu de méthylène (BM) est une coloration très simple qui permet d'observer les champignons. Elle permet de renseigner sur: la forme des champignons, la taille, le mode de regroupement.

2. Mode opératoire

- On réalise un frottis et le fixe.
- On recouvre la lame de bleu de méthylène phéniqué, 1 à 2 minutes.
- On rince à l'eau distillée.
- On sèche la lame à l'air.
- On observe à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.

2.6. Identification biochimique

➤ Galerie classique

2.6.1. Test Urée indole

a. Principe

Urée-indole Le milieu urée-tryptophane (improprement appelé milieu urée-indole) permet de mettre en évidence :

- La présence d'une uréase.
- La présence d'une tryptophanase.

Ce milieu contient du tryptophane, de l'urée et du rouge de phénol comme indicateur de pH. La recherche de l'uréase consiste à constater l'alcalinisation du milieu suite à l'hydrolyse de l'urée et formation de carbonate d'ammonium (virage coloré spontané après incubation). La recherche d'une tryptophanase consiste à révéler la production d'indole (le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présente initialement dans le milieu), (révéler par l'addition de réactif) (**Bio-red, 2011**).

b. Mode opératoire

Pour chaque souche, deux tubes à essai stériles contenant 0,5 ml du milieu urée-indole ont été préparés, chacun d'eux sert à la réalisation d'un test.

- Le premier tube : sert à la recherche d'uréase.
- Le deuxième : pour la recherche d'indole.

Chaque tube a étéensemencé avec une goutte de suspension bactérienne, prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur, puis incubé à 37°C pendant 24 heures. (**Bio-red, 2011**).

c. Lecture

- **Uréase** : (premier tube) un virage coloré du milieu au rouge violacé ou au rouge rose indique une réaction d'uréase positive. Si la couleur du milieu demeure inchangée, la réaction d'uréase est négative.

- **L'indole** : (deuxième tube) l'apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de 4 à 5 gouttes de réactif de Kovacs dans le tube révèle la présence d'indole, la réaction est dite indole +.

S'il n'y a pas d'apparition d'un anneau rouge, la réaction est dite alors indole (-) (**Bio-red, 2011**).

2.6.2. Milieu Mannitol mobilité

a. Principe

- Ce milieu permet de mettre en évidence :

- La fermentation du mannitol à certaines entérobactéries

- La mobilité des bactéries

- La réduction des nitrates en nitrites.

C'est un milieu semi-solide qui contient du Mannitol et du rouge de phénol comme indicateur de pH. Avant l'ensemencement le milieu doit être fondu au Bain-marie bouillant puis refroidi totalement (**Bio-red, 2011**).

b. Mode opératoire

A l'aide d'une anse de platine chargée de la suspension bactérienne le tube a été ensemencé par piqure centrale jusqu'au fond du milieu. Puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 h (**Bio-red, 2011**).

c. Lecture

- **Mannitol** : La couleur du milieu vire au jaune indiquant la fermentation du Mannitol (Mannitol positif). Au contraire si le milieu garde sa couleur originale (rouge), il n'y a pas de fermentation (Mannitol négatif).

- **Mobilité** : les bacilles sont mobiles s'il y a une diffusion des bactéries au cours de la ligne d'ensemencement et le milieu devient trouble. Dans le sens opposé si les bacilles sont immobiles la culture des bactéries reste au long du stries d'ensemencement (**Bio-red, 2011**).

2.6.3. Milieu citrate de Simmons

a. Principe

Ce milieu permet de mettre en évidence si la bactérie peut se développer avec le citrate et l'utiliser comme seule source de carbone et d'énergie, cette bactérie est considérée comme citrate positif.

Le milieu au citrate de Simmons contient du citrate de sodium et du sel d'ammonium ainsi que du bleu de bromothymol. Un test diagnostique positif repose sur la génération de sous-produits alcalins du métabolisme du citrate. L'augmentation subséquente du pH du milieu est démontrée par le changement de couleur de l'indicateur de pH. (Mac Williams, 20109).

b. Mode opératoire

Les tubes de Citrate de Simmons réfrigérés sont laissés à température ambiante avant l'inoculation. La suspension bactérienne a été prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur, préalablement stérilisée à la flamme, en la trempant dans la suspension. La pente du milieu au Citrate a étéensemencée en stries longitudinales et parallèles. Le métabolisme bactérien du Citrate nécessite de l'oxygène et, par conséquent, les bouchons ont été placés sans serrer sur les tubes. (Bio-red, 2011).

c. Lecture

- **Citrate positif** : la croissance est visible sur la surface inclinée et le milieu devient bleu de Prusse intense. Les carbonates alcalins et les bicarbonates, sous-produits du catabolisme du citrate, élèvent le pH du milieu faisant passer le bleu de bromothymol de la couleur verte d'origine au bleu.
- **Citrate négatif** : une trace ou aucune croissance n'est visible. Aucun changement de couleur est produit, le milieu reste vert foncé (Bio-red, 2011).

2.5.4. Milieu TSI (Triple Sugar Iron)

a. Principe

➤ Ce milieu permet de mettre en évidence :

- La fermentation du glucose chez les entérobactéries (que ce soit avec ou absence de gaz), le lactose, le saccharose
- La réduction du sulfate en sulfure (en présence de fer, donne un sédiment noir de sulfure de fer) (Bio-red, 2011).

b. Mode opératoire

À l'aide d'une pipette Pasteur stérile une goutte de la suspension bactérienne a été prélevée etensemencée en stries à la pente du milieu et par piqûre centrale le culot. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 h (Bio-red, 2011).

c. Lecture

- **Culot :**

Jaune : fermentation du glucose (glucose positif)

Rouge : glucose négatif (couleur non changé)

Noire : formation de sulfure d'hydrogène

Bulles : formation de gaz

- **Pente de la gélose**

Jaune : utilisation du lactose et/ou saccharose (lactose et/ou saccharose positif)

Rouge : lactose et/ou saccharose négatif (couleur non changé) (**Bio-red, 2011**).

2.7. L'antibiogramme

- La méthode utilisée est celle de diffusion en milieu solide.

Elle a été effectuée selon les dernières recommandations du Comité De L'Antibiogramme De La Société Française De Microbiologie (**CA-SFM 2022**).

- Les antibiotiques utilisés sont représentés dans le tableau 04

Tableau 04: Les antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiogramme

Antibiotique	Abréviation	Charge	Famille (CA - SFM 2022)
Amoxicillin	AX	25 µg	Béta-Lactamines
Ampicilline	AM	10 µg	Béta-Lactamines
Ticarciline	TI	75 µg	Béta-Lactamines
Céfoxitine	CX	30 µg	Béta-Lactamines
Cefixime	CFM	5 µg	Béta-Lactamines
Cefazoline	KZ	30 µg	Béta-Lactamines
Cefotaxime	CTx	30 µg	Béta-Lactamines
Amikacine	AK	10 µg	Aminosides
Gentamicine	CN	10 µg	Aminosides
Erythromycin	E	15 µg	Macrolides et Apparentés
A-Fusidique	FA	10 µg	Acides fusidiques
Chloramphenicol	C	30 µg	Phénicolés

Matériel et méthodes

Ciprofloxacine	Cip	5 µg	Fluoroquinolones
Ofloxacin	OX	5 µg	Fluoroquinolones
Tétracycline	TE	30 µg	Tétracyclines
Vancomycine	VA	30 µg	Glycopeptides
Colistine	COL	10 µg	Polymixine
Rifampycine	RIF	5 µg	Rifamycines
Furanes	F	300 µg	Nitrofurane
Bactrim	COT	25 µg	Sulfaméthoxazole / Diaminopyrimidines
A-Nal	NA	30 µg	

2.7.1. Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture jeune de 24 h, on a prélevé à l'aide d'une anse de platine une seule colonie bactérienne (afin d'éviter de sélectionner un variant atypique), et la mettre dans 1ml d'eau physiologique.

La suspension bactérienne est standardisée à l'aide du témoin 0,5 McFarland.

2.7.2. Inoculation des géloses

L'inoculum bactérien a été utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

Un écouvillon en coton stérile a été plongé dans la suspension bactérienne, l'excès de liquide est éliminé en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.

L'inoculum a été réparti par écouvillonnage de façon homogène sur toute la surface de la gélose MH dans trois directions en prenant soin de ne pas laisser d'espace entre les stries.

2.7.3. Dépôt des disques

Les disques ont été fermement déposés à la surface de la gélose MH inoculée et sèche à l'aide d'une pince stérilisée. Un maximum de 6 disques convient pour les boîtes de 90 mm de diamètre. Elles ont été incubées dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques, 24 h à 37°C et les boîtes doivent être placées couvercle en bas.

2.8. L'aromatogramme

Pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle sur les souches choisies, on a utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé ou aromatoigramme, (la méthode de Vincent) (Haddouchi et al., 2008)

2.8.1. Procédé d'aromatogramme

A. Pour les bactéries

On a coulé le milieu MH dans les boîtes de Pétri (20 ml dans chacune d'elles, épaisseur de 4 mm) et le laissé solidifié près du bec Bunsen pendant 30 min. Ensuite, les boîtes ont étéensemencées par écouvillonnage par la même suspension bactérienne précédemment préparé pour la réalisation de l'antibiogramme et laissé sécher pendant 5 min.

Des disques de papier Whatman coupés par un perforateur (6 mm de diamètre) et autoclavés pendant 20 min à 120 °C dans un tube à essai hermétiquement fermé, ont été imprégné dans 2 µl, 5 µl, 10 µl et 20 µl d'huile essentielle de *Myrtus communis* L. On met seulement en contact le bout de disque, celui-ci va absorber progressivement jusqu'à imprégnation totale du disque qu'on dépose sur les milieux inoculés à l'aide d'une pince stérilisée puis déposés sur les milieux inoculés à l'aide d'une pince stérilisée.

Quatre disques ont été utilisés pour chaque souche microbienne avec un disque de contrôle négatif imprégné de 5 µl Tween 80.

Les boites sont laissés 15 min à température ambiante pour permettre la diffusion de l'huile essentielle, puis elles ont été incubé couvercle en bas à 37 °C pendant 24 h. (Djenane et al., 2011).

B. Pour la levure

On a réalisé l'aromatogramme selon le même protocole utilisé pour les souches bactériennes sauf pour le milieu MH qui a été remplacé par le milieu Sabouraud, adapté à la croissance des levures et l'incubation qui a été effectué à 25°C pendant 48 h.

La lecture a été effectuée par mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Selon PONCE et al., (2003), la sensibilité des souches vis-à-vis des HEs est déterminée comme suit:

- Non sensible (-) ou résistante, si le diamètre est inférieur à 8 mm.
- Sensible (+) si le diamètre est compris entre 9 mm et 14 mm.
- Très sensible (++) si le diamètre est compris entre 15 mm et 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) si le diamètre est supérieur à 20 mm.

2.9. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Cette technique consiste à inoculer à l'aide d'un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en HE. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en HE

capable d'inhiber la croissance microbienne. La CMI de l'HE étudiée a été déterminée suivant la technique de macrodilution en milieu liquide rapportée par **Guinoiseau (2010)**.

2.9.1 Technique de macrodilution en milieu liquide

- La technique utilisée est celle décrite par **Guinoiseau E. (2010)**.

Elle permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentration décroissante en HE, comprise entre 80 mg/ml et 0,15 mg/ml. La gamme est obtenue par la méthode de dilution de demi en demi (1/2 - 1/4 - 1/8 - 1/16 - 1/32 - 1/64 - 1/128 - 1/156 - 1/212) à partir d'une solution mère.

a. Préparation de la solution mère

Le volume final du tube de la solution mère a été de 4,6 ml. Il a contenu de BMH ou de BSB, supplémenté en Tween 80 (0,01% v/v), plus 400 µl d'HE.

b. Préparation des dilutions

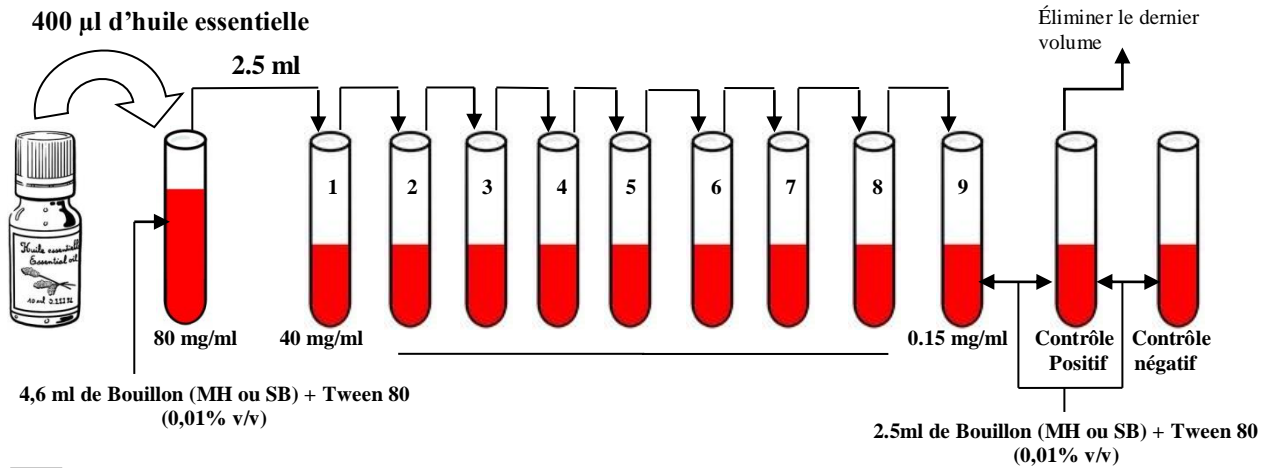
Chaque tube de la série a été préalablement numéroté et rempli avec des bouillons MH ou SB, auxquels a été ajouté du Tween 80 (0,01 % v/v). En utilisant la méthode de dilution en série, 2,5 ml du contenu de chaque tube ont été transférés au tube suivant, et ce processus a été répété de manière itérative jusqu'à atteindre la dernière dilution. À chaque transfert, il était important de bien agiter le contenu du tube.

En outre, un tube de contrôle négatif a été préparé contenant du bouillon MH ou SB supplémentés en Tween 80 (0,01% v/v). En plus de cela, un tube de contrôle positif a été préparé en ajoutant 13 µl d'inoculum microbien à 2,5 ml de bouillon supplémenté en Tween 80 (0,01 % v/v).

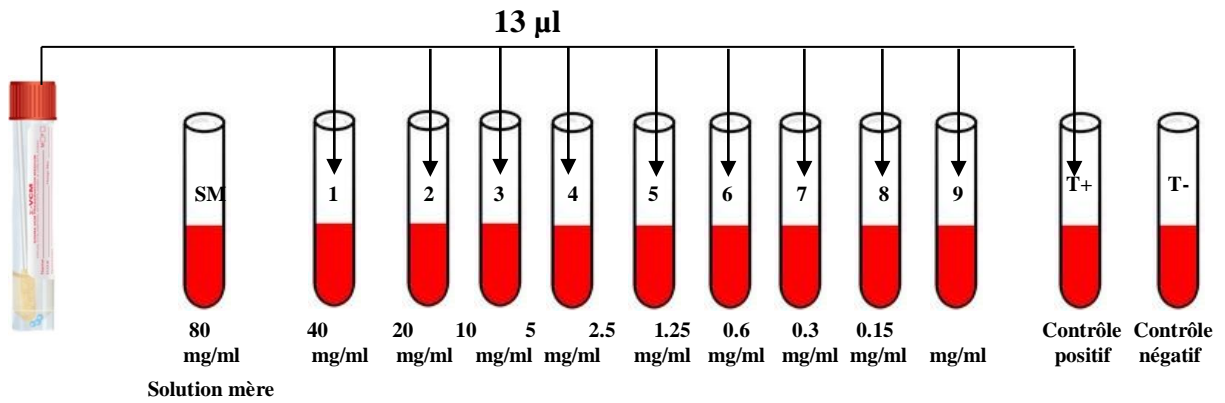
L'incubation a été effectuée à 37 °C pendant 24 h. La CMI de l'huile essentielle a été déduite à partir du premier tube de la gamme dépourvu de croissance microbienne visible à l'œil nu.

Matériel et méthodes

A



B



C

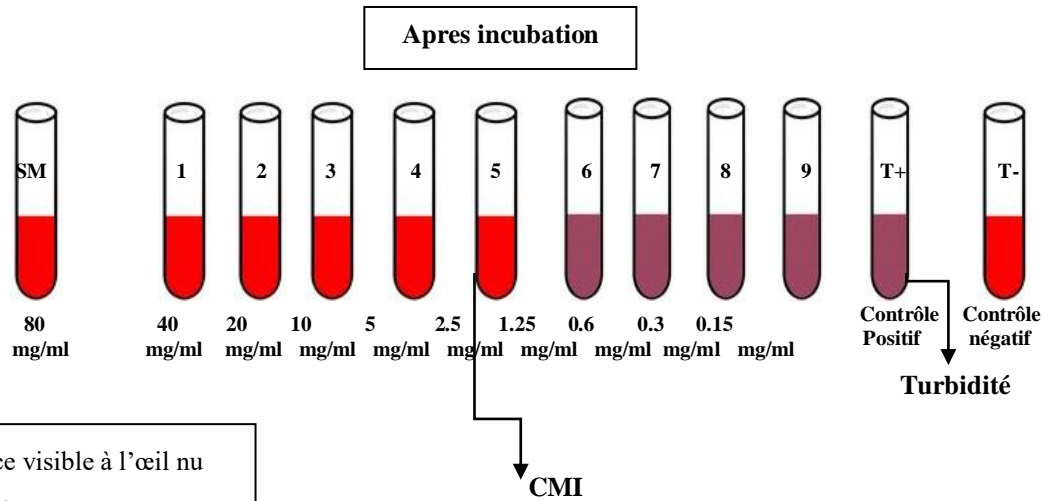


Figure 16 : Détermination de la CMI en milieu liquide

2.9.3. Détermination de concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)

La concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF) correspond à la plus faible concentration en HE capable de tuer plus de 99,99% de l'inoculum microbien initial (soit moins de 0,01% de survivants). C'est le paramètre qui permet de déterminer l'effet bactéricide ou fongicide de l'huile essentielle étudiée (Chebaibi et al., 2015).

a. Mode opératoire

1. Ensemencement : En utilisant les tubes de la série qui ne présentent aucune croissance visible à l'œil nu, des échantillons ont été ensemencés sur des milieux MH et SB versés dans des boîtes de Pétri d'un diamètre de 60 mm. Cela a été réalisé en trempant la pipette Pasteur dans le contenu des tubes, puis en réalisant des stries sur la surface du milieu gélosé. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries, et à 35 °C pendant 48 heures pour les levures.

b. Lecture : La CMB/CMF correspond à la plus petite concentration d'huile pour laquelle aucune croissance n'est observée. (Guinoiseau 2010)

Le schéma ci-dessous de la figure 7 montre la méthode de travail

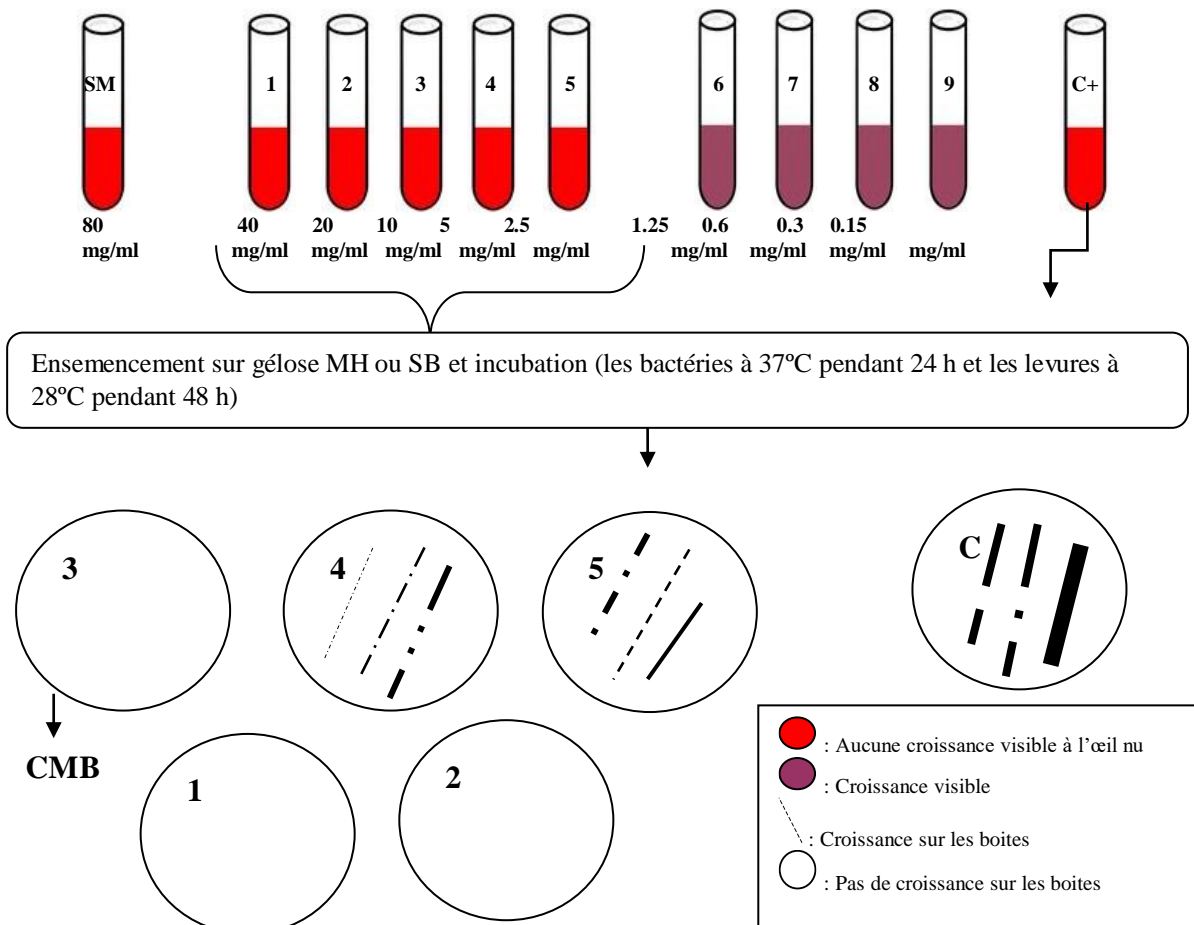


Figure 17 : Détermination de la CMB/CMF en milieu solide



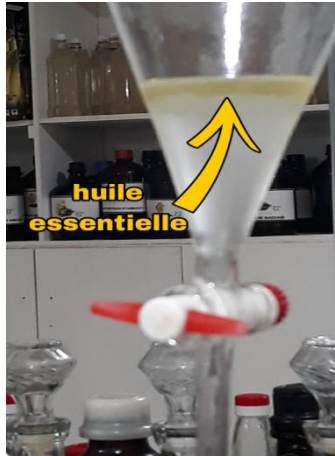
Résultats et discussion

1. Extraction de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*

L'huile essentielle obtenue par vapo-hydrodistillation à partir des feuilles séchées du *Myrtus communis L.*

La figure 18 ci dessus représente les caractéristiques organoleptiques mentionnée dans le tableau 5

Tableau 5 : Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle des feuilles du *Myrtus communis L.*

Huile essentielle	Caractéristiques	Figure18(Prise personnelle)
Aspect	Visqueux	
Couleur	Jaunâtre	
Odeur	Caractéristique de la plante	

2. Rendement

- Le tableau ci-dessous représente le calcul du rendement de notre huile essentielle

Tableau 06 : Rendement d'huile essentielle de *Myrtus communis L.*

la masse d'huile essentielle en (g).	matière végétale en (g).	le rendement en huile essentielle en (%).
9.20	8000	0.115

Les feuilles de l'échantillon de *Myrtus communis L.* étudié dans ce travail, ont un rendement faible, proche à celui rapporté par (Bekhechi C et al., 2019) [0,13%], obtenu à partir d'un échantillon récolté à partir de la région de Beni Khellad (Telemcene, Algérie).

La valeur qu'on a obtenu est inférieure à celles obtenues par (Bouzabata et al., 2010) à partir de plusieurs échantillons de différentes régions du nord-est algérien : de 0,4 à 1,2% (El Kala, El Tarf), de 0,5 à 1,5% (Zitouna, El Tarf), de 0,2 à 0,7% (Seraidi, Annaba).

Djenane et al., (2010) ont rapporté une valeur plus inférieure (0,05%) obtenue à partir d'un échantillon récolté de la région de Tizi-Ouzo (Algérie).

- La différence entre ces résultats du rendement en HE de la même espèce, peut s'expliquer par :



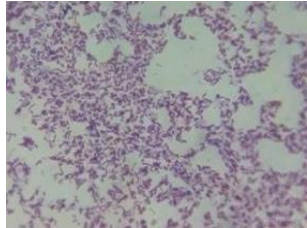


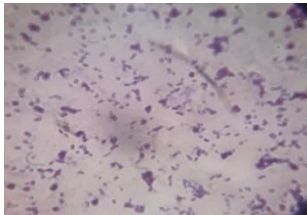
- l'origine et les variations génétiques de la plantes.
- La saison de la récolte.
- Le climat et les changements environnementaux, le type du sol.
- De plus, la méthode de séchage, de conservation et d'extraction, jouent également un rôle important dans la détermination de la quantité d'huile (Saied et al., 2022 ; Rahimi et al., 2015 ; Giuliani et al., 2022).

3. Identification des souches



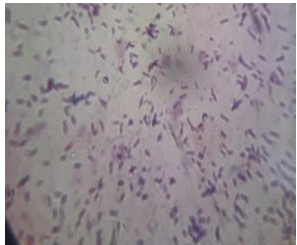

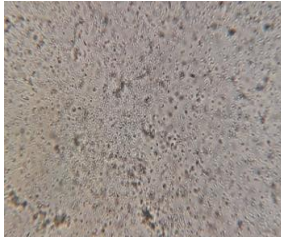
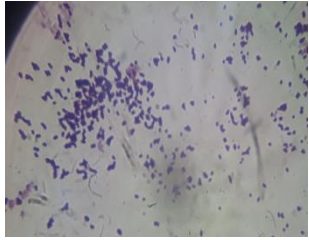
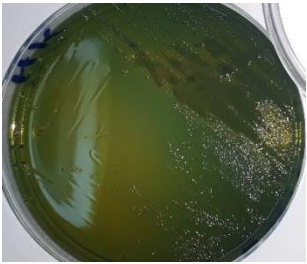


3.1. Observation macroscopique et microscopique

Le tableau ci-dessous montre les résultats de la vérification des souches microbiennes sur leurs milieux spécifiques. Ainsi que l'examen de l'état frais de ses souches puis la coloration de Gram des bactéries et la coloration de bleu de Méthylène de la levure sous le microscope.

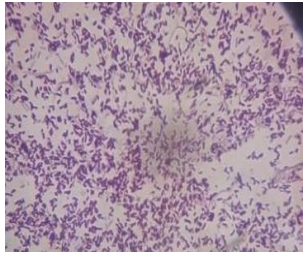
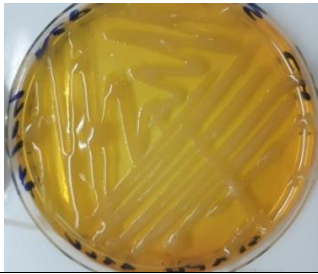

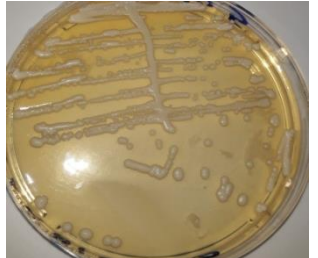

Tableau 07: Résultats des observations macroscopique et microscopique des souches microbiennes

Les bactéries			
Résultat	Observation Macroscopique	Observation microscopique	
		Etat frais	Coloration de Gram
<i>Escherichia coli</i>			
Description	Colonies d'un aspect visqueux, lisse, plat, réguliers et de couleur orange.	Des coccobacilles mobiles.	Coccobacilles Gram négatif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
Description	Colonies de forme rondes bombée, régulier,	bacilles immobiles.	bacilles Gram négatif.

Résultats et discussion

	visqueuses et brillante de couleur orange.		
<i>Enterobacter cloacae</i>			
Description	Des colonies rondes, légèrement plates, régulières et de couleur orange.	Des bacilles immobiles.	Bacilles droits (bâtonnet), isolée, Gram négatif.
<i>Staphylococcus aureus</i>			
Description	Colonies sphériques, lisses, luisantes, irrégulières, et de couleur jaune doré.	Des cocci immobiles.	Cocci groupées par deux ou en amas caractéristiques « en grappes de raisin », Gram positif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
Description	Des colonies plates, muqueuses, régulières et de couleur verte.	Des bacilles mobiles.	bacilles isolés ou en diplobacilles, Gram négatif.

Résultats et discussion

<i>Escherichia coli</i> ATCC			
Description	Des colonies d'un aspect visqueux, lisses, régulières, plates et de couleur orange.	Des bacilles mobiles.	Bacilles Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC			
Description	Aspect sphérique, lisses, luisantes, irrégulières et de couleur Jaune or.	Des cocci immobiles.	Cocci groupées par deux ou en amas caractéristiques « en grappes de raisin », Gram positif
La levure			
/	Observation macroscopique	Observation microscopique	
		Etat frais	Coloration de Bleu de méthylène
<i>Candida albicans</i>			
Description	une forme sphérique, lisses, régulières, et de couleur blanche.	Des formes arrondies	Formes arrondies (colonies coloré en bleu).

2. Résultats de l'identification biochimique

Le tableau ci-dessus 08 montre les résultats des tests biochimiques

Tableau 08: Résultats des tests biochimiques de la galerie classique

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli ATCC</i>	<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>
• Urée	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
• Indole	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
• Citrate de Simmons	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
• Mannitol	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
• Mobilité	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
• TSI :							
Lactose	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Saccharose	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Glucose	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Gas	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
H ₂ S	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)

Test positif : (+), test négatif : (-)

➤ Les caractères biochimiques

Test positif : (+), test négatif : (-), Variable : (V)

- *Escherichia coli* (Urée -, indole +, citrate -, mannitol V, mobilité +, glucose +, lactose +, saccharose V) (**Hawkey 2006**)
- *Klebsiella pneumoniae* (Urée +, indole -, citrate +, mannitol +, mobilité -, glucose +, lactose +, saccharose +) (**Hawkey 2006**)
- *Enterobacter cloacae* (Urée V, indole -, citrate +, mannitol +, mobilité +, glucose +, lactose +saccharose +) (**Hawkey 2006**)
- *Staphylococcus aureus* (mannitol +, mobilité -) (**Peacock, 2006**).

Résultats et discussion

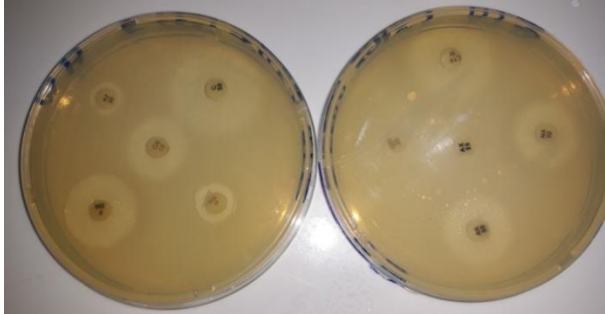
Tous les résultats qu'on a obtenus sont identiques à ce que (Hawkey 2006) et (Peacock, 2006) ont approuvé, à l'exception du résultat du test TSI. La raison la plus probable pour ne pas montrer un résultat habituel du test TSI est que le milieu de culture est invalide

3. Résultats de l'antibiogramme

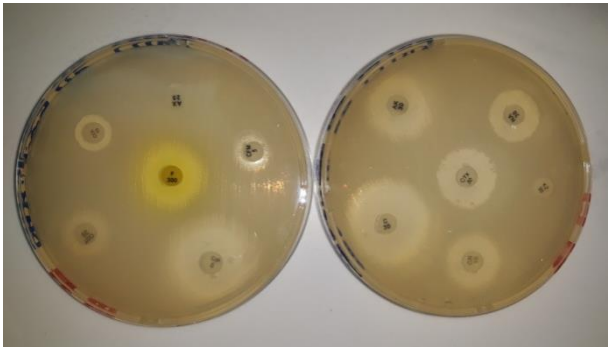
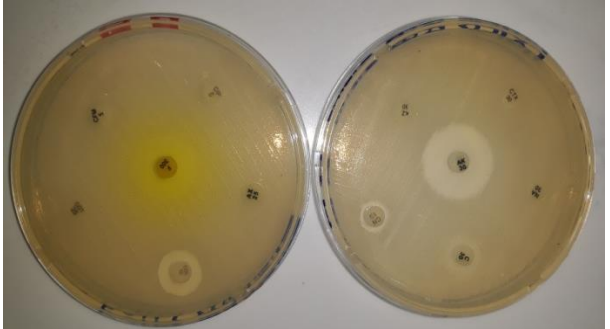
Le tableau ci-dessus **tableau 09** montre les résultats de l'antibiogramme.

Les résultats de la sensibilité étudiée pour chaque antibiotique sont exprimés par les 3 lettres « S » « R » et « I » dont les significations sont : « S » pour Sensible, « R » pour Résistant, et « I » pour sensibilité Intermédiaire.

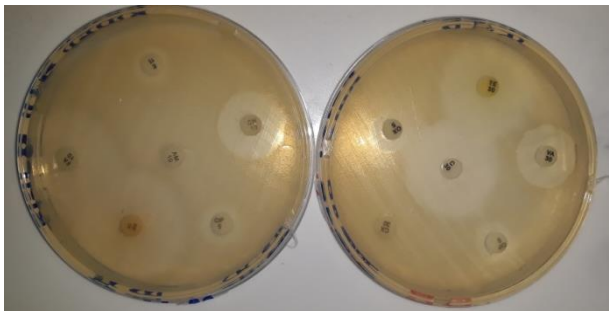


Tableau 09: Résultats de l'antibiogramme (Selon CA-SFM, 2022),

		<i>Escherichia coli</i>		
L'antibiotique	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)	Résultat	Figure	
CN	16	S		
KZ	11	R		
C	26	S		
COL	11	S		
F	21	S		
AX	6	R		
CTX	24	I		
NA	21	S		
AK	21	S		
COT	6	R		
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
ATB	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)	Résultat	Figure	

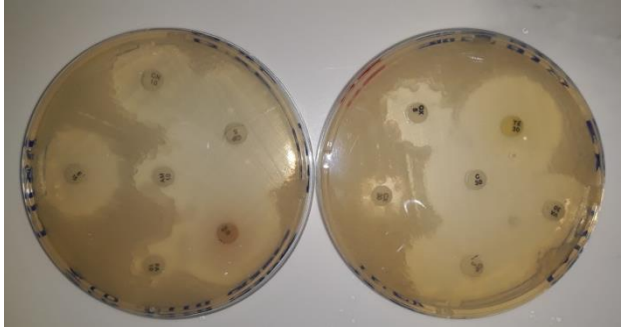
Résultats et discussion

CN	13	S	
KZ	6	R	
C	25	S	
COL	11	S	
F	19	S	
AX	6	R	
CTX	19	S	
NA	15	I	
AK	17	S	
COT	17	S	
CIP	22	S	
CFM	6	R	
<i>Enterobacter cloacae</i>			
ATB	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)	Résultat	Figure
CN	9	R	
KZ	6	R	
C	6	R	
COL	12	S	
F	11	R	
AX	6	R	
CTX	6	R	
NA	6	R	
AK	23	S	
COT	6	R	
CFM	6	R	
CIP	6	R	
<i>Staphylococcus aureus</i>			
ATB	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)	Résultat	Figure

Résultats et discussion

CX	6	R	
OX	11	S	
C	30	S	
TE	28	S	
VA	20	S	
CIP	11	R	
CN	20	S	
E	10	R	
AM	6	R	
FA	23	S	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
ATB	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)	Résultat	Figure
CN	6	R	
TI	6	R	
CIP	11	R	
KZ	6	R	
COL	13	S	
C	6	R	
CTX	6	R	
<i>Escherichia coli ATCC</i>			
ATB	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)	Résultat	Figure
CN	25	S	
KZ	20	I	
C	31	S	
COL	17	S	
F	24	S	
AX	9	R	
CTX	30	I	
NA	26	S	
AK	26	S	

Résultats et discussion

COT	35	S	
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC		
ATB	Diamètre des zones d'inhibition en (mm)	Résultat	Figure
CN	24	S	
CIP	41	S	
RIF	33	S	
AM	18	S	
E	26	S	
VA	25	S	
TE	30	S	
OX	22	S	
C	37	S	
FA	11	R	
CX	6	R	

D'après les résultats obtenus, mentionnés dans le tableau au-dessus, on constate que les valeurs des diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques pour chaque souche étudiée, concordent avec celles données par la commuté d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2022), puisqu'elle entre dans l'intervalle des limites acceptables.

On remarque que le résultat S est le plus fréquent en général.

Les deux souches à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* ATCC) étudiées dans ce travail, semblent être les plus sensibles. Cela peut être attribué au fait que la paroi cellulaire des bactéries Gram positives est constituée d'une seule couche, alors que la paroi cellulaire Gram négative est une structure multicouche entourée d'une membrane cellulaire externe (Shtayeh A et al., 1998). La membrane externe est un élément très important dans la physiologie des bactéries à Gram négatif, constituant une structure de résistance aux ATBs (Bouskraoui M et al., 2017).

Le tableau 10 ci-dessus présente le pourcentage d'inhibition (le nombre des souches sensibles en fonction du nombre des souches utilisés) de chaque antibiotique,

Tableau 10: Pourcentage d'inhibition des antibiotiques

ATBs	CN	KZ	C	COL	F	AX	CTX	NA	AK	COT	CIP
%d'inhibition	71.42	0	71.42	100	75	0	20	50	100	50	40
ATBs	CFM	CX	OX	E	TE	VA	AM	FA	RIF	TI	/
% d'inhibition	0	0	100	50	100	100	50	50	100	0	/

➤ Le **tableau 10** montre que :

- la Colistine est l'ATB qui a le pourcentage d'inhibition le plus grand, parmi les ATBs utilisés (5 de 5 souches testées sont sensibles).

La Colistine interagit avec le lipide A des lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe des bactéries. Cette interaction déplace les cations divalents qui stabilisent naturellement les membranes bactériennes, entraînant une fuite de composés cellulaires et, finalement, la mort cellulaire. Bien que ce mode d'action soit le principal, d'autres mécanismes ont été décrits telles que l'inhibition des enzymes respiratoires NDH-2, la neutralisation du LPS et la précipitation des composants cytoplasmiques, principalement les ribosomes. (**Albertos et al., 2021**).

- En deuxième ordre on trouve le Chloramphénicol et Gentamicine qui ont inhibés 5 de 7 souches testées avec un pourcentage de 71.42%. Utilisant leurs modes d'action :

Chloramphénique : Se fixe sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome et inhibe l'élongation de la chaîne peptidique (**Dusart et covette, 2008**).

Gentamicine : Se fixent à la sous-unité 30S du ribosome pour inhiber directement la synthèse protéique et provoquer des erreurs de lecture de l'ARNm (**Dusart et covette, 2008**).

- Alors que le pourcentage d'inhibition le plus faible est déterminée pour l'Amoxiciline et Céfazoline (4 de 4 souches testées sont résistantes).

4. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*

4.1. Détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* vis-à-vis des microorganismes testés

Les résultats de diffusion des disques de l'huile essentielle des feuilles séchées de *Myrtus communis L.* sont représentés dans le **tableau 11**.

Tableau 11 : Les diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* (en mm)

Les souches microbiennes	Les quantités d'huile essentielle				Le controle négatif
	2 µl	5 µl	10 µl	20 µl	5 µl
<i>Escherichia coli</i>	08 (-)	10 (+)	11 (+)	16 (++)	00 (-)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	08 (-)	10 (+)	12 (+)	14 (++)	00 (-)
<i>Enterobacter cloacae</i>	08 (-)	09 (+)	11 (+)	15 (++)	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	07 (-)	10 (+)	12 (+)	17 (++)	00 (-)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	06 (-)	06 (-)	06 (-)	06 (-)	00 (-)
<i>Escherichia coli ATCC</i>	06 (-)	06 (-)	06 (-)	06 (-)	00 (-)
<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	10 (+)	12 (+)	14 (+)	22 (+++)	00 (-)
<i>Candida albicans</i>	10 (+)	13 (+)	14 (+)	19 (++)	0 (-)

Non sensible (-) ou résistante : le diamètre < 8 mm, Sensible (+) : 9 mm < diamètre < 14 mm, Très sensible (++) : 15 mm < diamètre < 19 mm, Extrêmement sensible (+) : diamètre > 20 mm

❖ Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 06 et 22 mm (**Figure 21**).

➤ Les résultats du **tableau 11** sont dessinés dans le Graphique ci-dessus

Résultats et discussion

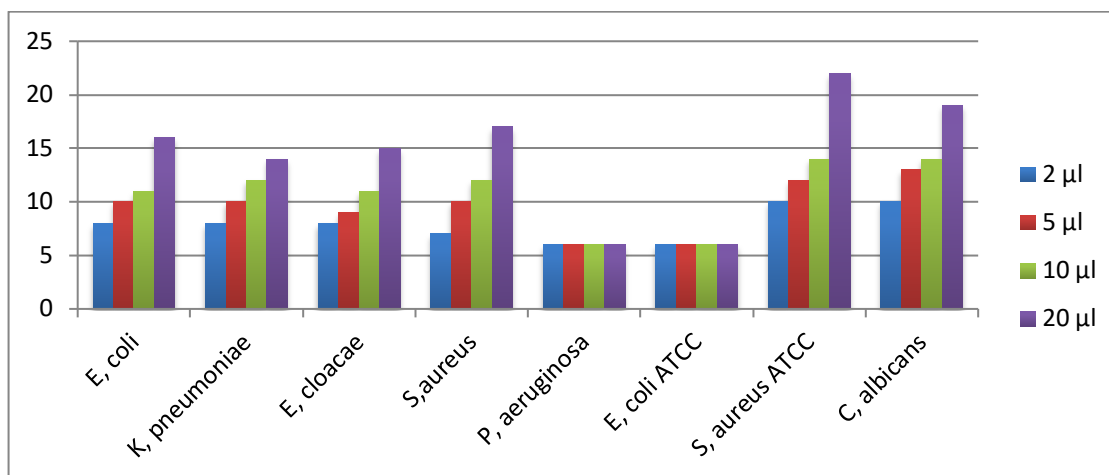


Figure 19 : Histogramme représentatif des résultats de la sensibilité des souches testées par l'huile essentielle

Figure 19 montre que toutes les souches microbiennes testées présentent une sensibilité croissante avec l'augmentation du volume d'HE testé, à l'exception de : *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli ATCC*, qui ne montrent aucune sensibilité (-) à aucune des quantités d'HE testées

➤ Dans le tableau on observe :

- Pour une quantité de 2 µl, les deux seules qui montrent une sensibilité (+) sont: *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, avec un diamètre d'inhibition de 10 mm.

- Pour les quantités de 5 µl et 10 µl, toutes les souches (sauf *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli ATCC*), manifestent une sensibilité de niveau (+) vis-à-vis l'huile essentielle testée. On constate que le diamètre d'inhibition de chacune des souches à 5 µl, est très proche de celui à 10 µl.

- Pour une quantité de 20 µl, *Staphylococcus aureus ATCC* montre une sensibilité de niveau (+++), alors que les autres souches manifestent une sensibilité de niveau (++).

- Dans le test d'antibiogramme, cette souche montre une sensibilité significativement considérable vis-à-vis : **CN, CIP, RIF, AM, E, VA, TE, OX, C**. La zone d'inhibition la plus grande est obtenue avec la Ciprofloxacine avec un diamètre d'inhibition de 41 mm.

Le graphique ci-dessus représente les pourcentages d'inhibition des différents volumes de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* vis-à-vis des souches testées.

Résultats et discussion

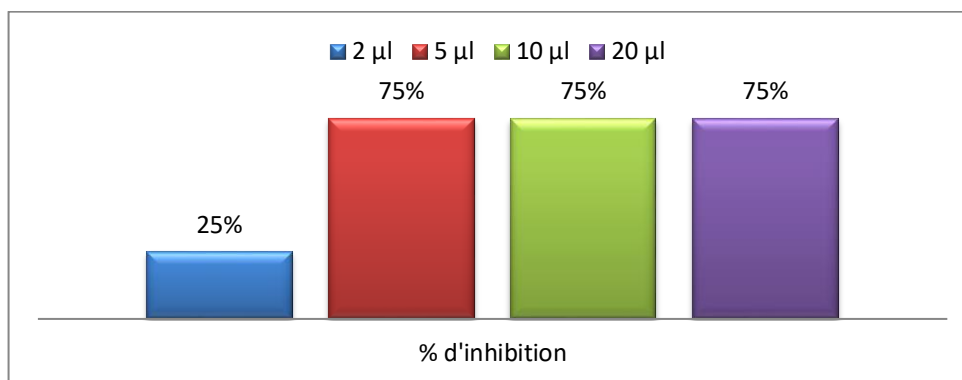


Figure 20 : Histogramme des pourcentages d'inhibition des différentes quantités l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*

Les résultats obtenus dans ce travail, sont en général en accord avec d'autres rapportés dans des travaux antérieurs ayant le même objectif : l'évaluation de l'activité microbienne de l'huile essentielle des feuilles de *Myrtus communis L.*

Une étude faite par (**Mouadjdia et Seridi 2014**), montrée que *Pseudomonas aeruginosa* possède une résistance considérable vis-à-vis l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*, avec un diamètre d'inhibition de 8 mm (proche de celui obtenu dans cette étude, pour la même bactérie (6 mm)).

Les résultats d'une étude faite par (**Djenane et al., 2011**), montrent que l'HE de *Myrtus communis L.* possède une bonne activité antibactérienne contre *S. aureus* et *E. coli*, avec des diamètres d'inhibition de 14,8 mm et 10,7 mm, respectivement.

L'étude de (**Chebaibi et al., 2016**), révèle la sensibilité de la souche bactérienne *Enterobacter cloacae* et la souche fongique *Candida albicans*, avec des diamètres d'inhibition de 20 mm et 22 mm, respectivement.

Les résultats de cette étude et d'autres précédentes, montrent que les huiles essentielles sont légèrement plus actives contre les bactéries Gram positives que celles à Gram négatif.

La grande sensibilité de *Staphylococcus aureus* (ayant le diamètre d'inhibition le plus grand : 22 mm) confirme l'hypothèse de la variation de la sensibilité des bactéries en fonction de la structure de leur paroi.

La grande résistance des bactéries à Gram négatif est liée, en partie, à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane, contrairement à la structure simple de la membrane des bactéries à Gram positif qui est dotée d'une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et une assise externe constituée de lipopolysaccharides et de protéines.

Résultats et discussion

Cette structure peut empêcher la prise d'huiles ou protéger la couche peptidoglycane vis-à-vis des huiles (Breijyeh *et al.*, 2020)

4.2. Détermination de la CMI

Des résultats intéressants sont obtenus suite de détermination la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* testée viv-à-vis des souches cliniques et de référence. Les résultats sont présentés dans le **tableau 12**.

Tableau 12 : Les résultats des CMI de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*

Les souches microbiennes	Les concentrations (mg/ml)								
	40	20	10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	- CMI	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	- CMI	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-	- CMI	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	- CMI	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli ATCC</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus ATCC</i>	-	-	-	-	-	- CMI	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	- CMI	+	+	+	+	+

(-) : aucune croissance observé à l'œil nu dans les dilutions, (+) : une croissance visible

Les valeurs des CMI de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* obtenues dans cette étude, varient entre 1,25 et 5 mg/ml.

➤ D'après le tableau des résultats, on constate que

- *Enterobacter cloacae* et *Candida albicans* partagent la même valeur de CMI, dont elle est 5 mg/ml. La même chose pour *E. coli* et *S. aureus*, et pour *K. pneumoniae* et *S. aureus ATCC*, avec des valeurs de 2,5 et 1,25 mg/ml, respectivement.

Résultats et discussion

• Alors que pour *P. aeruginosa* et *E. coli* ATCC, aucune des concentrations d'HE testées inhibe leur croissance.

Les résultats de la macrodilution en milieu liquide, sont en accord avec ceux obtenus par la méthode de diffusion en milieu solide (aromatogramme), exprimés en termes de diamètre des zones d'inhibition mesuré autour du disque, sauf pour *Klebsiella pneumoniae*, ils ne sont pas compatibles. Elle montre des petites zones d'inhibition, d'autre part, d'une forte CMI.

En règle générale, plus la zone d'inhibition est large, plus la concentration d'antimicrobien requise pour inhiber la croissance des microorganismes est faible. Cela dépend toutefois de la concentration d'agent antimicrobien dans le disque et de sa diffusibilité. Les agents antimicrobiens dont la taille moléculaire est très élevée diffusent mal dans la gélose, ce qui rend les méthodes de diffusion en disque peu fiables pour ces composés (Matuschek et al., 2018).

Les valeurs de CMI obtenues dans ce travail pour *E. coli* et *E. cloacae* sont supérieures à celles rapportées par (Barhouchi, 2015), pour les mêmes bactéries (0.6 et 1.25 mg/ml, respectivement). Alors que pour *K. pneumoniae* il rapporte une valeur égale à celle qu'on a montré.

4.3. Détermination de la CMB et CMF

Les résultats des concentrations minimales bactéricide et fongicide sont représentés dans le tableau 13.

Tableau 13: Les résultats des CMB de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L.

Les souches microbiennes	Les concentrations (mg/ml)								
	40	20	10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15
<i>Escherichia coli</i>	-	- CMB	+	+	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	- CMB	+	+	+	+	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	- CMB	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	- CMB	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+

Résultats et discussion

ATCC				CMB					
<i>Candida albicans</i>	-	-	- CMF	+	+	+	+	+	+

(-) : aucune croissance dans les boîtes pétris, (+) : une croissance (présence des colonies)

Les CMB sont très intéressantes variant entre 5 et 20 mg/ml, et CMF = 10 mg/ml.

➤ D'après le tableau 12 on constate qu'il y a des CMB égales, qui sont :

- CMB *Escherichia coli* = CMB *Klebsiella pneumoniae*
- CMB *Enterobacter cloacae* = CMB *Staphylococcus aureus* = CMF *Candida albicans*
- La plus grande CMB est observée chez *Staphylococcus aureus* ATCC

- On note que l'huile a complètement inhibé la croissance de la plupart des souches microbiennes (bactériennes/fongique) testées à plusieurs concentrations différentes, ce qui signifie que l'huile a un effet bactéricide/fongicide vis-à-vis de ces dernières.

- On note que l'huile a complètement inhibé la croissance de la plupart des souches microbiennes (bactériennes/fongique) testées à plusieurs concentrations différentes, ce qui signifie que l'huile a un effet bactéricide/fongicide vis-à-vis de ces dernières.

Dans une étude récente, (El Hartiti et al., 2020) signalent des valeurs de CMB pour *S. aureus* et *K. pneumoniae*, (2,64 mg/ml et 6,6 mg/ml, respectivement) inférieure à celles qu'on a trouvées pour les mêmes bactéries.

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant. (Piribi, 2006). De ce fait, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas due à un mécanisme unique. On considère que ces composants ont plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. (Verica et Knezevic, 2013)

(Oyedemi et al., 2009) ont montré que les composants de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. (eugénol, -terpinéol et -terpinène) ont un effet bactéricide contre les bactéries Gram positives et Gram négatives en perturbant leurs systèmes membranaires. Leur caractéristique importante : l'hydrophobicité, leur permet de déchirer les lipides de la membrane cellulaire bactérienne, perturbant la structure cellulaire et les rendant plus perméables.

Résultats et discussion

Les modes d'actions antifongiques sont assez similaires à ceux décrits pour les bactéries, concernant les dommages irréversibles de la membrane cellulaire et la coagulation du contenu cellulaire. (Verica et Knezevic, 2013).

La Figure 21 représente les résultats des diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L.

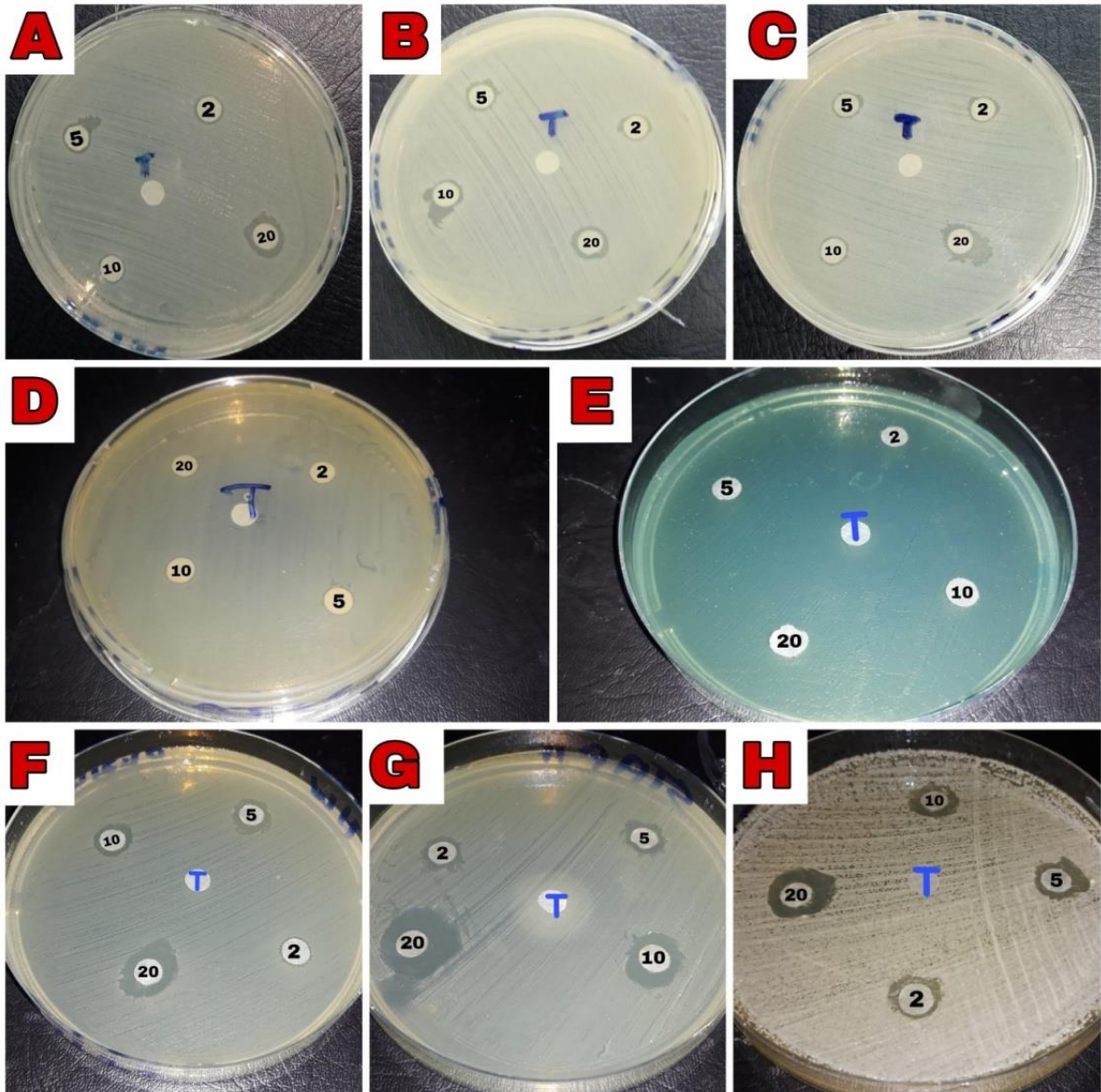


Figure 21 : Les diamètres des zones d'inhibition (prise personnelle).

A/ E.coli, B/Klebsiella pneumoniae, C/Enterobacter cloacae, D/E.coli ATCC, E/Pseudomonas aeruginosa, F/Staphylococcus aureus, G/Staphylococcus aureus ATCC, H/Candida albicans



**Conclusion et
perspectives**

Au fil des années, les bactéries ont développé des mécanismes de défense qui les rendent moins sensibles, voire résistants, aux antibiotiques couramment utilisés. Cette résistance est principalement due à une utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques, tant chez les humains que dans le secteur agricole.

À l'heure actuelle, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie suscite un vif intérêt dans la recherche biomédicale et est devenue aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt s'explique d'une part, par le fait que les plantes médicinales constituent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part, par la nécessité de rechercher des traitements plus efficaces en privilégiant une approche douce, exempte d'effets secondaires.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude de l'activité antimicrobienne *in vitro* de l'huile essentielle extraite des feuilles de la plante aromatique médicale *Myrtus communis L.* de l'Algérie.

L'huile essentielle a été extraite par vapo-hydrodistillation dans un alambic de type inox alimentaire 304. Le rendement obtenu est de 0,115%. L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* a été illustrée par la méthode d'aromatogramme et la technique de macro dilution en milieu liquide.

Les résultats d'aromatogramme obtenus ont montré que l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* présente une activité antibactérienne intéressante contre *Staphylococcus aureus* ATCC, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ATCC, *Entérobactère cloacaeet Klebsiella pneumoniae* où les zones d'inhibition varient entre 8-22 mm avec des concentrations croissantes d'huile essentielle (2 µl – 20 µl). Par contre avec *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ATCC ils ont présenté une sensibilité vis-à-vis les différentes quantités d'huile. Les mêmes résultats ont été obtenus par la méthode de macro dilution où la valeur de CMI varie entre 2,5 et 5.

Pour la mise en évidence de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* il s'est avéré qu'elle possède une activité importante vis-à-vis de la souche de *Candida albicans*.

Finalement, grâce à nos résultats obtenus *in vitro*, on a pu démontrer que l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* présente une activité antimicrobienne intéressante, et constitue une première étape initiale encourageante dans la recherche de nouvelles molécules antibactériennes et antifongiques d'origine naturelle. Ces molécules sont proposées comme une alternative aux antibiotiques classiques utilisés couramment en médecine thérapeutique.

Conclusion et perspectives

À la lumière de ces résultats obtenus et en tenant compte de la problématique abordée, il apparaît pertinemment de développer d'avantage cette étude en:

- Évaluant l'activité antibactérienne et antifongique d'autres extraits préparés à partir de cette plante.
- Testant les différents extraits sur un large éventail de souches cliniques.
- Examinant d'autres activités biologiques telles que l'activité antiparasitaire, antivirale, anti-inflammatoire, antidiabétique, ect.



Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

-A-

- AidiWannes W., B. Mhamdi et B. Marzouk (2009). GC comparative analysis of leaf essential oils from two myrtle varieties at different phenological stages. *Chromatographia*, 69, No. 1/2, 145–150
- Akin, M., Aktumsek, A., &Nostro, A., (2010). Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *African Journal of Biotechnology*, 9(4): 531-535.
- Anses (2011). *Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylocociques. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments. Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail.
- Albertos Diana Torres, Helena M. B. Seth-Smith, Nicole Joosse, Claudia Lang, Olivier Dubuis, Magdalena Nüesch-Inderbinen, VladimiraHinic et Adrian Egli (2021). Colistin resistance in Gram-negative bacteria analysed by five phenotypic assays and inference of the underlying genomic mechanisms. *BMC Microbiology*, 21:321.
- Aleksic.V, Knezevic.P (2014).Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*.169: 240–254.
- Ariane Biquand (2017). Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* et leurs traitements en 2017. *Sciences du Vivant [q-bio]*.
- Arpita Sharma, Shashi Prakash Yadav, Dwipjyoti Sarma et Arunika Mukhopadhaya. Modulation of host cellular responses by gram-negative bacterial porins. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. Deuxième chapitre, V 128, 2022, Pages 35-77.
- Azimi, M., & Hasheminasab, F. S. (2020). Evaluating the efficacy and safety of the myrtle (*Myrtus communis*) in treatment and prognosis of patients suspected to novel coronavirus disease (COVID-19): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 21(1), 1–5.

-B-

- Bakkali.F, Averbeck.S, D. Averbeck, Idaomar.M (2008).Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*46: 446–475.

Références Bibliographiques

- Barhouchi badra (2015). Synthèse des dérivés glucidiques, lipidique et protéiques d'origine biologique et applications industrielles. Thèse : Université Badji Mokhtar-Annaba
- Bekhechi Chahrazed, Charaf Eddine Watheq Malti, Maghnia Boussaïd, Imane Achouri, Karima Belilet, Marc Gibernau, Joseph Casanova et Félix Tomi (2019). Composition and Chemical Variability of *Myrtus communis* Leaf Oil From Northwestern Algeria. *Natural Product Communications*, 1–6.
- Berka-Zougali B., Hassani A., Besombes C. et Allaf K. (2010). Extraction of essential oils from Algerian myrtle leaves using instant controlled pressure drop technology. *J. Chromatogr. A*, 1217, 6134–6142.
- Berka-Zougali B., Ferhat MA, Hassani A., Chemat F. et Allaf K.S. (2012). Comparative study of essential oils extracted from Algerian *Myrtus communis* L. leaves using microwaves and hydrodistillation. *Int J Mol Sci*, 13 : 4673–95
- Berrazeg M. Diene SM, Drissi M. Kempf M, Richert H, Landaud L, Rolain JM (2013A) Biotyping of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from France and Algeria using *MALDI-TOF MS*. *PLOS*. 8(4): 1-10
- Besombes C. 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse Doctorat. Université de La Rochelle. 41-45
- Bio-red. 2011. Citrate-de-Simmons/Gélose. V5, 356-1835/356-4834.
- Bio-red. 2011. Mannitol-Mobilité-Nitrate/Gélose. V4, 355-5514/356-4874.
- Bio-red. 2011. Triple-Sugar-Iron, TSI /Gélose. V4, 356-4384.
- Bio-red. 2011. Urée-Indole/Bouillon., V3, 356-4713/356-4714.
- Boughendjioua.H. Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomumzeylanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse. Annaba : UNIVERSITE BADJI-MOKHTAR**2015**.
- BOUKHATEM.MN, FERHAT.A et KAMELIA (2019). MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES : REVUE DE LITTÉRATURE. *Revue Agrobiologia* 9(2): 1653-1659.

Références Bibliographiques

- Boushraoui M, Zohair S, Sora N, Benaouda A, Zerouali K, Mahmoud M. Guide pratique des bactéries pathogènes, SOMIPEV: Société Marocaine de d'Infectiologie Pédiatrique et de Vaccination, édition 2017.
- Bouzabata A., Bazzali, O., Cabral, C., Gonçalves, M.J., Cruz, M.T. et Bighelli, A. (2013a). New compounds, chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity of the essential oil from *Myrtusni vellei* Batt.&Trab., an endemic species of Central Sahara. *J. Ethnopharmacol*, 149 (3), 613–620
- Bouzabata A., Castola V., Bighelli A., Abed L., Casanova J. et Tomi F. (2013b). Chemical variability of Algerian *Myrtus communis* L..*Chemistry and Biodiversity*, 10, 129-137.
- Bouzabataa.A, Castolaa.V, Bighellia.A, Lahouari.A, Joseph.C and Felix.T(2013).Chemical Variability of Algerian *Myrtus communis* L.*CHEMISTRY & UNIVERSITY*. Vol 10 : 129-137.
- Bouzabata, A (2015). Contribution to the study of a medicinal and aromatic plant, *Myrtus*. Thèses de Doctorat en Sciences Médicales.Vol.4(2) : 11-14
- Brada M., Tabti N., Boutoumi H., Wathelet J.P. et Lognay G. (2012). Composition of the essential oil of leaves and berries of Algerian myrtle (*Myrtuscommunis* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 24, No. 1, 1-3.
- BreijyehZeineb, ButhainaJubeh et Rafik Karaman (2020). Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *molecules*, 25, 1340
- Bruneton J. (1995). Phytochimie des plantesmédicinales

-C-

- Chalchat, J.C., Garry, R.P. et Michet, A. (1998). Essential oils of myrtle (*Myrtus communis* L.) of the Mediterranean littoral. *J. Essent. OilRes.*, 10, 613-617.
- Carle Sylvie (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*. Vol. 42 Supplément 2.
- Chebaibi A., Marouf Z F., Rhazi-Filali F., Fahim M. et Ed-Dra A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. Lavoisier SAS. *Phytotherapie*. 2-9

Références Bibliographiques

- Cottiglia.F, Casu.L, Leonti.M, Caboni.P, Floris.C, Busonera.B, Farci.P, Ouhtit.A and Giuseppina.S (2011). *Journal of Natural Products* : A-E
- Cox S.D., Gustafson J.F., Warmington J.R. &Wyllie S.G.,1991. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. *Journal of Applied Microbiology* .88, pp170-175.
- Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR, Wyllie SG.(2000) The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88, 170-175.
- Claudia Giuliani, Martina Bottoni, Fabrizia Milani, SeforaToderò, PatriziaBerera, Filippo Maggi, Laura Santagostini and Gelsomina Fico (2022). Botanic Garden as a Factory of Molecules: *Myrtus communis* L. subsp. *communis* as a Case Study. *Plants*.
- Clave, D (2011). Fiche technique : *Enterobacter cloacae*. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique 1-5.
- Clave, D (2011). Fiche technique : *Pseudomonas aeruginosa*. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique 1-4.
- Clave, D (2013). Fiche technique: *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique, 1-3.
- Clave, D (2013). Fiche technique UE : *Staphylococcus aureus*. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique 1-4.
- CA-SFM. 2022. Communiqué 2022 du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, v.1, p172.

-D-

- Da Silva, A.C.R ; Lopes, P.M; Barros de Azevedo, M.M; Machado Costa, D.C; Sales Alviano, C and Sales Alviano, D (2012). Biological Activities of α -Pinene and β -Pinene Enantiomers. *Molecules*.17 : 6305-6316.
- David M. P. De Oliveira, Brian M. Forde, Timothy J. Kidd, Patrick N. A. Harris, Mark A. Schembri, Scott A. Beatson, David L. Paterson et Mark J. Walkera (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol 33 Issue 3.

Références Bibliographiques

- Deepesh, K, ;Shrutikirti , Kumari, K (2013). *Klebsilla*: In Drinking Water. International Journal of Pharmaceutical Science Invention, 2 (12) : 38-42
- Denis. F, Poly. M-C, Martin. C, Cattoir. V. Du prélèvement à la caractérisation des souches. In Bactériologie médicale : Techniques Usuelles. Édition : *Elsevier Masson*, 2016, Chapitre 03.
- Djadi Amina et Ait-Amar Hamid (2014). Étude de la réactivité microbiologique et de l'effet toxique sur *Carassius auratus* du Glutaraldehyde. *European Scientific Journal*, vol.10, No.21 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.
- Di Pasqua R, Hoskins N, Betts G, Mauriello G. (2006) Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2745-2749.
- Djenane, D; Yangüela, J; Montañés, L; Djerbal, M; Roncalés, P (2011). Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control* 22 ,1046-1053
- 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.
- Ducluzeau, R; Raibaud, P (1994). Écologie microbienne du tube digestif et mode d'action des probiotiques en nutrition animale. *Cahiers Agricultures* ; 3 : 353-60.
- Dusart J et Coyette J Microbiologie .Editions de Boeck université, Bruxelles, 2008. édition 3

-E-

- EDQM. Huiles essentielles – Aetherolea. *Pharmacopée Européenne* (2017).9ème éd.
- Ebimiewei Etebu et Ibemologi Ariekpar (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research* : 90-101.

Références Bibliographiques

- EL Hartiti, H., EL Mostaphi, A., barrahi, M., Ben Ali, A., Chahboun, N., Amiyare, R., ouhssine, M. (2020). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Myrtus communis* leaves, Karbala International Journal of Modern Science, 6(3),.

- Elfellah M.S, Akhter M.H And Khan M.T(1994).ANTI-HYPERGLYCAEMIC EFFECT OF AN EXTRACT OF MYRTUS COMMUNE IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES IN MICE. *Journal Of Ethnopharmacology*, 11: 275-281.

- Estevão Salvagnini.L, José Ricardo S. Oliveira, Eduardo dos Santos L, Raquel Regina D. Moreira, Rosemeire Cristina L. R. Pietro (2008).Avaliação da Atividade Antibacteriana de folhas de *Myrtus communis* L. (*Myrtaceae*). *Rev. Bras. Farmacogn. BrazJ. Pharmacogn.*18(2): 241- 243.

-F-

- Franceschini, P (2016).*Myrtus communis*L. en Corse et en Méditerranée : de sa composition chimique jusqu'à ses utilisations thérapeutiques. *Sciences pharmaceutiques*.

-G-

- Gauthier.R, Gourai.M, Bellakhdar.J. A (1988) PROPOS DE L'HUILE ESSENTIELLE RELATED DE *Myrtus communis* L. var. *italica* RECOLTE AU MAROC. I. Rendements et compositions durant un cycle végétatif annuel : 97-115.

- Gazard Kinde et Hervé Menan (2021). Affections mycosiques Tome 2, Collège des enseignants-chercheurs de parasitologie-Mycologie africains. Les éditions d'Avenir, Abidjan, Cote d'Ivoire, n°17103 ed 1, 338p.

- Giampieri, f., cianciosi, d., &forbes-hernández, t. Y. (2020). Myrtle (*Myrtus communis* L.) Berries, seeds, leaves, and essential oils: new undiscovered sources of natural compound with promising health benefits. *Food frontiers*, 1(3), 276-295.

- Gianfranco De Pascale et Gerard D. Wright (2010). Antibiotic Resistance by Enzyme Inactivation: From Mechanisms to Solutions. *Chem Bio Chem*, Vol 11, 1325 – 1334.

- Giuliani Claudia , Martina Bottoni, Fabrizia Milani, Sefora Toderò, Patrizia Berera, Filippo Maggi , Laura Santagostini 5 and Gelsomina Fico (2022). Botanic Garden as a Factory of Molecules: *Myrtus communis* L. subsp. *communis* as a Case Study. *Plants*

- Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). *Myrtus communis* L. (*Myrtaceae*): Myrte. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 313-320).

Références Bibliographiques

- Goetz.P, Ghedira.K (2012). Phytothérapie anti-infectieuse : 1-364.
- Graça Miguel.M (2010). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. 15: 9252-9287.
- Guinoiseau E. (2010). Molécules antibactériennes issus d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse : Université De Corse-Pasquale paouli
- Gugliuzza.G, Fascella.G, Mammano.M.M and Militello.M (2015).Non-destructive leaf area estimation in *Myrtus communis* plants. ISHS: 89-93.
- Gustafson JE, Liew YC, Chew S, Markham J, Bell HC, Wyllie SG, Warmington JR. (1998) Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, 26, 194-198.

-H-

- Haddouchi Farah et Benmansour Abdelhafid (2008). Huiles essentielles, utilisation et activité biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les Technologies De Laboratoire*, N°8
- Hamrouni.L, Souayah.N, Khouja M. Larbi &Rejeb M. Néjib (2012).Effect of osmotic stress on *Myrtus communis* germination. *Biologia* 67/1: 132-136.
- Hart, C.A. (2006). *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* and *Serratia* spp. In S. H.Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and practice of Clinical Bacteriology* (2nd ed., pp. 377-386). England, UK: John Wiley and Sons Ltd
- Hayyun Durrotul Faridah, Erna Kristiana Dewi, Fatimah Mustofa Helmi Effendi et Hani Plumeriastuti (2020). A Review of Antimicrobial Resistance (AMR) of *Escherichia coli* on Livestock and Animal Products: Public Health Importance. *Sys Rev Pharm* 11(11):1210-1218.
- Hawkey Peter.M (2006). Identification of Enterobacteriaceae. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology* Second Edition, Chapitre27 : 342-345.
- Henna.A, Graça Miguel.M and Nemmiche.S (2018) Antioxidant Activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt. &Trab. Extracts: A Brief Review. *Médecine*. 5,89 : 1-68.
- Homburger, F.; Boger, E. 1968. The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices: A review. *Cancer Res*. 28, 2372-2374.

-I-

Références Bibliographiques

- Iazzourene.G. (2015). (Composition chimique et activité biologique d'extraits du myrte (*Myrtus communis* L.), de la carotte sauvage (*Daucus carota* L. subsp. *carota*) et de la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia* L.) Thèse Alger : Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach
- Inouye.S, Abe.S (2007). Nouvelle approche de l'aromathérapie anti infectieuse. *Phytothérapie* Numéro 1: 2–4.
- ISO 16654:2001. Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157
- Issa IA and Bule MH (2015).A Comparative Study of the Hypoglycemic Effect of Aqueous and Methanolic Extracts of *Myrtus communis* on Alloxan Induced Diabetic Siwis Albino Mice. *Medicinal & Aromatic Plants* Volume 4:3. 1-5.

-K-

- Karzan.O.Q, Sahar A.A. Al-Saadi.M and Thuraya A. Al-Saadi (2017).Chemical Composition of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) Fruits. *journal of applied life sciences international*. 12(3): 1-8.
- Kern Benaibout M. (2006). *Escherichia coli* potentiellement pathogènes pour l'Homme: Synthèse bibliographique sur le portage par les animaux domestiques et la transmission à l'Homme par la contamination de l'environnement. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ENVT.
- Kovač, J ; Šimunović, K; Wu, Z ; Klančnik, A; Bucar, F; Zhang, Q; Možina, S.S (2015). Antibiotic Resistance Modulation and Modes of Action of (-)- α -Pinene in *Campylobacter jejuni*. *PLOS ONE* 10(4): 1-14.

- L-

- Lambert RJW, Skandamis PN, Coote P, Nychas GJE. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol.
- Lewis K., Ausubel F.M. 2006. Prospects for plant derived antibacterials. *National Biotechnology. Journal of Applied Microbiology*, 91, 453-462.
- Lucía Fernández et Robert E. W. Hancock (2012). Adaptive and Mutational Resistance: Role of Porins and Efflux Pumps in Drug Resistance. *Clinical Microbiology Reviews* p. 661– 681.

-M-

Références Bibliographiques

- Mahboubi. M, GhazianBidgoli. F (2010). In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. *Phytomedicine* 17: 771–774.
- Mahmoud I. Nassar, El-Sayed A. Aboutabl, Rania F. Ahmed, Ezzel-Din A. El-Khrisy, Khaled M. Ibrahim, Amany A. Sleem (2010). Secondary metabolites and bioactivities of *Myrtus communis*. *Pharmacognosy Research* Vol 2 : 325-329.
- Malecky M., 2007. Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat, INRA, UMR 791 Physiologie de la Nutrition et Alimentation, F-75231 Paris, pp. 30-35
- Malika Gouali, François-Xavier Weill (2013) Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC): topical *enterobacteriaceae*. *La Presse Médicale*, 42 (1), pp.68-75..
- Maria P. MacWilliams (2009). Citrate Test Protocol. American Society for Microbiology, 1-7
- Matuschek E., Ahman J., Webster C. & Kahlmeter G. (2018). Antimicrobial susceptibility testing of colistin- evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter spp.* *Clin. Microbiol Infect.* 24, 865-870
- Medda, s., & mulas, m. (2021). Fruit quality characters of myrtle (*Myrtus communis L.*) Selections: review of a domestication process. *Sustainability*, 13(16), 8785.
- Mohamadi.Y, Lograda.T, Ramdani.M, Figuered.G, Chalard.P (2021). Chemical Composition And Antimicrobial Activity Of *Myrtus communis* Essential Oils From Algeria. *Biodiversitas* 22(2) : 933-946
- Mouadjdia Selma et Seridi Meryem (2014). Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle du *Myrtus communis*. Mémoire de Master. Sciences de la Nature et de la Vie. UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA.
- Moro Buronzo. A (2008). Grand guide des huiles essentielles: 1-254.
- Muller H, Paul.M, Hartmann.D, Huch.V, Blaesius.D, Koeberle.A, Werz.O, and Jauch.J (2010). Total Synthesis of Myrtucommulone A. *Angewandte Chemie*, 49 : 2045-2049.

Références Bibliographiques

-Nawaf Al-Maharik, NidalJaradat, Nisreen Al-Hajj and Summayah Jaber (2023). *Myrtuscommunis L.*: essential oilchemical composition, total phenols and favonoids contents, antimicrobial, antioxidant, anticancer, and α -amylase inhibitory activity. *Chemical and Biological Technologiesin Agriculture*. Volume 10 (41).

-O-

- Odeh, d., oršolić, n., berendika, m., đikić, d., domjanićdrozdek, s., balbino, s., &jurčević, i. L. (2022). Antioxidant and anti-atherogenic activities of essential oils from *Myrtus communis L.* And *Laurus nobilis L.* In rat. *Nutrients*, 14(7), 1465.

- Oyedemi O.Y, A. I. Okoh, L. V. Mabinya, G. Pirochenva et A. J. Afolayan (2009). The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, -terpineol and γ -terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. *African Journal of Biotechnology*, 8 (7) : 1280-1286.

- Owlia, P., Saderia, H., Rasooli, I., &Sefidkon, F., (2009). Antimicrobial characteristics of some herbal Oils on *Pseudomonas aeruginosa* with special reference to their chemical compositions. *Iranian. Journal of Pharmaceutical Research*, 8(2): 107-114.

- Ozan Özcan (2017). Mersin Bitkisinin (*MyrtusCommunis* subsp. *communis*) Termal Deri Yaniği ÜzerineEtkisi [YüksekLisansTezi] Istanbul : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2017.

- Ozcan, O., Ipekci, H., Alev, B., Ustundag, U. V., Sen, A., Emekli-Alturfan, E., Sliveky, K., &Tunali-Akbay, T. (2020). The effect of *Myrtuscommunis L.* ethanol extract on the small intestine and lungs in experimental thermal burn injury. *Journal of Thermal Biology*, 93, 102685.

-P-

- Piochon.M. Etude Des Huiles Essentielles D'especiesVegetales De La Flore Laurentienne: Composition Chimique, Activites Pharmacologiques Et Hemi-Synthese. Mémoire Presente Comme Exigence Partielle De La Maitrise En Ressources Renouvelables:Université Du Quebec 2008.

-Pibiri, M.C. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse, 177p

Références Bibliographiques

- Podschun R. Ullmann U (1998). *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical Microbiology Reviews*.11(4):589-603

- Ponce, R. Fritz, C. del Valle, S.I. Roura (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 36 : 679–684

-R-

- Rahimi Mahmood Reza, Roghaye Zamani, Hossein Sadeghi et Ali Rahmani Tayebi (2015). An Experimental Study of Different Drying Methods on the Quality and Quantity Essential Oil of *Myrtus communis L.* leaves. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18 (6) : 1395-1405.

- Rosato, A., Vitali, C., De Laurentis, N., Armenise, D., & Milillo, M. A., (2007). Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedicine*, 14: 727-732.

-Rustam I. Aminov (2010). A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*. Volume 1.

-S-

- Saad NY, Muller CD, Lobstein A. (2013) Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28, 269-279

- Sabtu .N, D. A. Enoch, et N. M. Brown (2015). Antibiotic resistance: what, why, where, when and how?. *British Medical Bulletin*, Vol : 116 :105–113.

- Saeid Hazrati, Seyyed Jaber Hosseini, Mohammad-Taghi Ebadi et Silvana Nicola (2022). Evolution of Phytochemical Variation in Myrtle (*Myrtus communis L.*) Organs During Different Phenological Stages. *horticulturae*, 8 : 757

- Salzer U.J. 1977. The analysis of essential oils and extracts (Oleoresins) from seasonings a critical review. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 9:345-373.

- Satrani. B, Farahe. A et Talbi. M. Effet de la distillation fractionnée sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du Myrte (*Myrtus communis L.*) du Maroc. *Acta Botanica Gallica*. 53 (2). 235-242.

Références Bibliographiques

- Schelenz, S., K. Bramham, and D. Goldsmith. (2007). Septic arthritis due to extended spectrum beta lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*. *Joint Bone Spine* 74:275-278,
- Sepici.A, Gürbüz.I, Çevik.C, Yesilada.E (2004). Hypoglycaemic effects of myrtle oil in normal and alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology* 93 : 311–318.
- Sharon Peacock (2006). *Saphylococcus aureus*.In S. H.Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), Principles and practice of Clinical Bacteriology (2nd ed., pp. 427-433). England, UK: John Wiley and Sons Ltd
- Shtaych A, Yaghmour R, Faidi Y, Salem K, Al-Nurid M. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area, *Journal of Ethnopharmacology* 60 (1998) 265-271.
- Smati, M; Clermont, O; Bleibtreu, A; Fourreau, F; David, A; Daubie, A.S; Hignard, C; Loison, O; Picard, B & Denamur, E (2015).Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. *Microbiology Open* 4(4): 604–615
- Smith, C.K.; Moore, C.A.; Alahi, E.N.; Smart, Â.T.; Hotchkiss, S.A. 2000. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168,189-99.
- Sumbul.S, Aftab Ahmad.M, Asi.M, and Mohd Akhtar (2011). *Myrtus communis* Linn. □ A review. *Indian Journal of Natural Products and Resources* Vol. 2(4) , pp. 395-402.
- Syeda. S, Ibrar. M, Barkatullah, Naveed. M, Ehsan. M (2012). Analgesic and gastrointestinal motility profile of essential oil from *Myrtus communis* leaves. *Phytopharmacology*, 4(1) : 81-86.

-T-

- Tayrone L. Pitt And Andrew J.H.Simpson (2006). *Pseudomonas* and *Plesiomonas*In S. H.Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), Principles and practice of Clinical Bacteriology (2nd ed., pp. 427-433). England, UK: John Wiley and Sons Ltd
- Tretiakova.I, Blaesius.D, Maxia.L, Wesselborg.S (2008). Myrtucommulone from *Myrtuscommunis* induces apoptosis in cancer cells via the mitochondrial pathway involving caspase-9. *Apoptosis* 13: 119–131.
- Turgis M, Han J, Caillet S, Lacroix M. (2009) Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi*. *Food Control*, 20, 1073-1079.

Références Bibliographiques

- Turina AV, Nolan MV, Zygadlo JA, Perillo MA. (2006) Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. *Biophysical Chemistry*, 122, 101-113.

-U-

- Ultee A, Bennik MH, Moezelaar R. (2002) The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1561-1568.

- Upmanyu Neha et Viveka Nand Malviya (2020). Antibiotics: mechanisms of action and modern challenges. *Microorganisms for Sustainable Environment and Health*. Chapter 18 : 367-382.

-V-

- Verica Aleksic et Petar Knezevic (2013). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis*L. *Microbiological Research*, Vol 169 : 240–254.

- Viillarroel. D & Kadja M. Gomes-Bezerra (2015). New botanical discoveries of *Myrtaceae* from Bolivia and notes on *Psidium hians*. *Phytotaxa* 195 (2): 163–170.

-W-

- Wanda C Reygaert (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*. 4(3): 482–501.

- Wassiyath M; Adolphe A; Haziz, S; Pacôme A.N; Denis, A and Baba-Moussa,L (2016). *Klebsiella pneumoniae* isolated from street foods: characterization for extended spectrum β -lactamases production and antibiotics resistance profile. *Biochemistry and Biotechnology Research* 4(2), pp. 27-37.

- Webber M.A et L. J. V. Piddock (2003). The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol 51, 9–11.

- Woodin Kathleen A. et Susan H. Morrison (1994). Antibiotics: Mechanisms of Action. *Pediatrics in Review*, Vol 15 No. 11.

-Y-

- Younis, C; Awad, A; El-Gamal, A; Hosni, R (2016). Virulence Properties and Antimicrobial Susceptibility Profiles of *Klebsiella* Species Recovered from Clinically Diseased Broiler Chicken. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 4(10): 536-542

Références Bibliographiques

-Z-

- Zhang Fusheng et Cheng Wei (2022). The Mechanism of Bacterial Resistance and Potential Bacteriostatic Strategies. *Antibiotics*. Volume 11.

Les references web:

Web 01: <https://www.viamichelin.fr/>

Web 02: - Myrte de Tarente (*MyrtusTarentina*), myrte à petites feuilles. [en ligne]. Disponible à: <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-811-myrte-tarente-myrtus-tarentina-petites-feuilles.html>..





Web 03: Le myrte et ses bienfaits - Physio Sahifa. [en ligne]. Disponible à <https://physiopharmlab.com/doctors/2021/11/15/le-myrte-etsesbienfaits/?fbclid=IwAR2vuAutpm9jqAp9yk4COMKaGawiN4rzfnUMmTQGozVmS2OfTjEIn3HXZo>

Web 04: Microbiologie clinique <https://microbiologie-clinique.com/Souche-bacterienne-reference.html>



Annexe

Préparation des milieux de culture

Milieux	Ingredientsgms/ltr.	Préparation	Figure (Prise personnelle)
Sabouraud	<ul style="list-style-type: none"> -Peptone 10.0 -Dextrose 40.0 -Agar 15.0 -Final pH 5.6 ± 0.2 at 25°C 	<p>Suspendre 65.0 g dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.</p>	
Bouillon nutritif	<ul style="list-style-type: none"> -Peptic digest of animal tissue 5.0 -Sodium chloride 5.0 -Beef extract 1.50 -Yeast extract 1.50 -PH 7.4±0.2 at 25°C 	<p>Dissoudre 13,0 g dans 1000 ml d'eau distillée. Chauffer doucement pour dissoudre complètement. Stériliser par autoclavage à 15 psi (121°C) pendant 15 minutes. Refroidir à température ambiante avant utilisation.</p>	
Chapman	<ul style="list-style-type: none"> -Pancreatic Digest of Casein 5.0 -Peptic Digest of Animal Tissue 5.0 -Beef Extract 1.0 -D-Mannitol 10.0 -Sodium Chloride 75.0 -Phenol Red 0.025 -Agar 15.0 -Final pH 7.4 ± 0.2 at 25°C 	<p>Suspendre 111 g dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.</p>	
Hektoen	<ul style="list-style-type: none"> -Agar 15.0 -Lactose 12.0 -Proteose peptone 12.0 -Sucrose 12.0 -Bile salts 9.0 -Sodium chloride 5.0 -Sodium thiosulphate 5.0 	<p>Dissoudre 76,67 g dans 1000 ml d'eau distillée. Chauffer doucement pour dissoudre complètement le milieu. NE PAS AUTOCLAVER OU SURCHAUFFER.</p>	

Annexe

	<ul style="list-style-type: none">-Yeast extract 3.0-Salicin 2.000-Ferric ammonium citrate 1.5-Acid fuchsin 0.10-Bromo thymol blue 0.065-PH 7.4 ± 0.2 at 25°C	Refroidir à $45-50^{\circ}\text{C}$ et verser dans des boîtes de Petri stériles.	
Gélose nutritive	<ul style="list-style-type: none">-Bacteriological agar 15-Beef extract 1-Peptone 5-Sodium chloride 5-Yeast extract 2-Final pH $7,4 \pm 0,2$ at 25°C	Suspendre 28.0 g dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer jusqu'à la dissolution totale. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.	