

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

M/M.p. 08/16

Université Med -Seddik Benyahia -Jijel

Faculté des Sciences de la Nature

كلية علوم الطبيعة و الحياة

et de la Vie

Département de Microbiologie Appliquée et  
Sciences Alimentaires



قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

**Mémoire de fin d'étude**

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

**Option : Microorganismes et Pathogénéicité**

**Thème**

*Etude de l'activité antibactérienne des huiles  
essentielles de quelques espèces de Lamiaceae et  
effet de leurs associations avec les antibiotiques*

Membre de jury :

Présidente : M<sup>lle</sup> AYAD R.

Examinatrice : M<sup>me</sup> BENHAMADA W.

Encadrante : M<sup>me</sup> BEKKA F.

08  
08

Présenté par :

M<sup>me</sup> BOUANK Hanane

M<sup>lle</sup> KEROUAZ Moufida



Année universitaire : 2015-2016

N°d'ordre : .....



جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
المكتبة  
رقم الجرد : 375

# Remerciements

*Nous tenons en premier lieu à remercier Allah qui nous a donné la volonté  
pour étudier et réalisé ce travail.*

*Le grand merci à notre encadreur M<sup>me</sup> BEKKA Fahima qui a fait pour nous un  
travail supplémentaire et nous a guidé lors de l'élaboration de ce travail avec ses  
encouragements, sa patience et ses conseils judicieux, nous la prions d'accepter nos  
sincères remerciements, notre profond respect et entiers dévouement.*

*Nous remercions également M<sup>lle</sup> Ayad pour l'honneur qu'il nous a fait de présider ce  
jury et M<sup>me</sup> Benhamada Wahiba voir accepté d'examiner ce travail.*

*Je tiens aussi à remercier tous les enseignants, ingénieurs, techniciens et  
administrateurs du département de Microbiologie Appliquée et sciences alimentaires,  
qui m'ont aidé, guidé et encouragé.*

*Dans le souci de n'oublier personne, que ceux qui nous ont aidé de près où de loin,  
trouve dans ces lignes l'expression de notre gratitude.*

# Dédicaces

## *Je dédie ce modeste travail à :*

*Ceux qui me sont les plus chers au monde : A la mémoire de ma mère, qui m'a souvent encouragée et m'a toujours souhaitée la réussite. A mon père, que Dieu le protège et lui prête une longue et heureuse vie,*

*Mes chers frères et Mes chères sœurs,*

*A mon chère fiancé Messoud*

*Mes copines : Asma, Meryem, Amira, Amina*

*moufida*

*Ceux qui me sont les plus chers au monde : A la mémoire de ma mère, qui m'a souvent encouragée et m'a toujours souhaitée la réussite.*

*Mes chers frères et Mes chères sœurs,*

*A mon chère marie Fateh*

*Mes copines : Nerimene, Wahida, Chahinaz, Rafika, Meryem*

*Hanane*

*Tout les amis et surtout les étudiants de Master II Microorganisme et Pathogénicité  
promotion 2015/2016.*

*Merci tout le monde*

## Sommaire

Listes des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction

## Synthèse bibliographique

## Chapitre I. Les huiles essentielles

I.1. Généralités sur les huiles essentielles .....	03
I.1.1. Définition .....	03
I.1.2. Localisation et rôle des huiles essentielles.....	03
I.1.3. L'utilisation des huiles essentielles.....	04
I.1.4. Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	04
I.2. Les compositions des huiles essentielles .....	05
I.2.1. Terpénoïdes .....	05
I.2.1.1. Monoterpènes .....	05
I.2.1.2. Sesquiterpènes .....	05
I.3. Activité des huiles essentielles .....	06
I.3.1. Activité biologique .....	06
I.3.1.1. Les ester .....	06
I.3.1.2. Les phénols .....	06
I.3.1.3. Les aldéhydes .....	07
I.3.1.4. Les cétones .....	07
I.3.1.5. Les alcools .....	07
I.3.1.6. Les terpènes.....	07
I.3.1.7. Les acides .....	07
I.3.1.8. Les sesquiterpènes .....	07
I.3.2. Activité antimicrobienne .....	07
I.3.2.1. Sites d'action des HEs .....	08
I.3.2.2. Mode d'action antifongique des huiles essentielles .....	09
I.4. Phototoxicité des huiles essentielles .....	09
I.5. Cancérogénicité des huiles essentielles.....	09

I.6. Association huiles essentielles antibiotiques .....	09
--	----

## Chapitre II. La résistance aux antibiotiques

II.1. Généralités sur les antibiotiques .....	11
II.1.1. Définition .....	11
II.1.2. Site et mode d'action des antibiotiques .....	11
II.1.3. Classification des antibiotiques .....	12
II.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques .....	12
II.3. Mécanismes de résistances .....	13
II.3.1. Altération (ou modification) des sites de liaison .....	13
II.3.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique .....	14
II.3.3. Imperméabilité membranaire .....	14
II.3.4. Pompes à efflux .....	14
II.4. Méthodes microbiologiques de détection de la résistance aux antibiotiques ....	14
II.5. Quelques exemples des espèces résistant aux antibiotiques.....	15
II.5.1. Résistance de <i>S. aureus</i> à la méthicilline (SARM).....	15
II.5.2. <i>E. coli</i> résistant aux B-Lactamines à Spectre Elargi (BLSE) .....	15

## Partie expérimentale

### Chapitre III. Matériel et méthodes

III.1. Matériel utilisé.....	17
III.1.1. Matériel végétal et antibiotiques .....	17
III.1.2. Matériel biologique .....	17
III.1.3. Matériel du laboratoire .....	18
III.2. Méthodes .....	19
III.2.1. Cinétique de croissance bactérienne.....	19
III.2.1.1. La courbe d'étalonnage .....	19
III.2.1.2. La courbe de croissance .....	19
III.3. Activité antibactérienne.....	19
III.3.1. Antibiogramme des souches testées .....	19
III.3.2. Aromatogramme sur milieu solide (méthode des disques) .....	20
III.3.3. Etude de l'association huiles essentielles / antibiotique par la méthode	

des disques.....	20
III.3.4. Détermination des Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des huiles essentielles par la méthode de microdilution en milieu liquide .....	21
III.3.5. Cinétique de croissance de SARM en présence des huiles essentielles .....	21
III.4. Etude statistique .....	21

## Chapitre IV Résultats et Discussion

IV.1. Cinétique de croissance.....	22
IV.1.1. La courbe d'étalonnage .....	22
IV.1.1.1. Courbe d'étalonnage d' <i>Escherichia coli</i> (CTX-M 15) (code 87) .....	22
IV.1.1.2. Courbe d'étalonnage de <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM) ( code 019).....	22
IV.1.2. La courbe de croissance .....	23
IV.1.2.1. Courbe de croissance d' <i>Escherichia coli</i> .....	23
IV.1.2.2. Courbe de croissance de SARM .....	24
IV.2. Activité antibactérienne .....	25
IV.2.1. Antibiogramme de vérification des souches teste.....	25
IV.2.1.1. Antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i> 87 .....	25
IV.2.1.2. Antibiogramme de SARM .....	26
IV.2.2. Aromatogramme sur milieu solide (méthode des disques) .....	26
IV.2.2.1. Aromatogramme d' <i>E.coli</i> 87.....	27
IV.2.2.2. Aromatogramme de SARM 019.....	27
IV.3. Association huiles essentielles/antibiotiques par la méthode des disques .....	30
IV.3.1. Effet de l'association huiles essentielles/antibiotiques sur <i>Escherichia coli</i> 87 .....	30
IV.3.1.1. Effet de l'association huiles essentielles de TYTO, TYS, OG, MP /CTX 31	
IV.3.1.2. Effet de l'association huiles essentielles de TYTO, TYS, OG, MP /CAZ 31	
IV.3.1. 3. Effet de l'association huile essentielle de LS /CTX et CAZ.....	31
IV.3.2. Effet de l'association huiles essentielles/antibiotiques sur le SARM .....	32
IV.3.2.1. Effet de l'association des huiles essentielles de TYTO, TYS, MP / FOX <sub>30</sub> 33	
IV.3.2.2. Effet de l'association OG, LS / FOX <sub>30</sub> .....	33
IV.4. Aromatogramme en milieu liquide (méthode de microdilution).....	34
IV.4.1. Aromatogramme en milieu liquide d' <i>Escherichia coli</i> 87.....	34

## Liste des figures

Figure	titre	page
<b>Figure 1</b>	Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne	8
<b>Figure 2</b>	Les différents modes d'action des antibiotiques	11
<b>Figure 3</b>	Mécanisme d'hydrolyse d'une $\beta$ -Lactamine par une $\beta$ -lactamase	16
<b>Figure 4</b>	Courbe d'étalonnage d' <i>Escherichia coli</i> 87	22
<b>Figure 5</b>	Courbe d'étalonnage de SARM	23
<b>Figure 6</b>	La courbe de croissance d' <i>Escherichia coli</i> 87	23
<b>Figure 7</b>	La courbe de croissance de SARM	24
<b>Figure 8</b>	Photos présentant l'antibiogramme de vérification de la souche d' <i>Escherichia coli</i> 87	25
<b>Figure 9</b>	Résultats de l'aromatogramme des HEs sur milieu solide de la souche <i>Escherichia coli</i> .	28

<b>Figure10</b>	Résultats de l'aromatogramme des HEs sur milieu solide de la souche <i>Staphylocoque aureus</i>	29
<b>Figure 11</b>	Résultats de l'association des HEs avec l'antibiotique CTX <sub>30</sub> sur milieu solide	30
<b>Figure 12</b>	Résultats de l'association des HEs avec l'antibiotique CAZ <sub>30</sub> sur milieu solide	31
<b>Figure 13</b>	Résultats de l'association des HEs avec l'antibiotique FOX <sub>30</sub> sur milieu solide	32
<b>Figure 14</b>	Résultats des CMI des HEs sur <i>E. coli</i>	34
<b>Figure 15</b>	Résultats des CMI des HEs en milieu liquide de SARM	35
<b>Figure16</b>	La courbe de croissance de <i>Staphylocoque aureus</i> en absence l'huile essentielle (Témoin +)	37
<b>Figure 17</b>	Effet de l'huile essentielle d'OG (CMI) sur la cinétique de croissance de <i>SARM</i>	37
<b>Figure 18</b>	Effet de l'huile essentielle de TYTO (CMI) sur la cinétique de croissance de <i>SARM</i>	38



## Liste des tableaux

Tableaux	Titre de tableau	page
Tableau I	Caractéristiques des souches testées	17
Tableau II	Résultats de l'antibiogramme de vérification de la souche <i>d'Escherichia coli</i>	25
Tableau III	résultats de l'antibiogramme de vérification de la souche de <i>Staphylocoque aureus</i>	26

## Liste des abréviations

**AFNOR**: Association Français de **NOR**malisation.

**AND**: Acide **Dé**soxyribo**Nuclé**ique.

**ANOVA**: Analysis of Variance.

**AMC<sub>30</sub>**: **A**moxyclav.

**AT<sub>30</sub>**: **A**ztreonam.

**BSLE**:**B**êta-**L**actamases à **S**pectre **E**largi.

**CAZ<sub>30</sub>**: **C**eftazidime.

**CIP<sub>5</sub>**: Ciprofloxacin.

**CLSI**: Clinical and Laboratory Standards Institute.

**CMI**: Concentration **M**inimale **I**nhibitrice.

**CTX<sub>30</sub>**: Cefotaxime.

**CTX-M**: Cefotaximase-Munich.

**DMSO**: Diméthylsulfoxyde.

**DO**: Densité **O**ptique.

**E. coli**: *Escherichia coli*.

**FOX<sub>30</sub>**: Cefoxitine.

**HE** : Huile **E**ssentielle.

**LS** : *Lavandula stoechas*.

**Mec A**: Methicillin Resistance Gene.

**MP**: *Mentha pulegium*.

**MSSA**: Methicillin-Susceptible *S. aureus*.

**OG** : *Origanum glandulosum*.

**OMS**: **O**rganisation **M**ondiale de la Santé

**OX<sub>5</sub>**: **O**xacilline

**PBP**: Penicillin **B**inding **P**rotein.

**PLP** : Protéines de **L**iaison aux **P**énicillines.

**rpm**: revolution per minute.

**SARM:** *Staphylococcus aureus* Résistance à la Méthicilline.

**S.aureus :** *Staphylocoque aureus*.

**SCCmec :** Staphylococcal Chromosome Cassette *mec*.

**SHV :** Sulfhydryl variable.

**TCC<sub>75/10</sub>:** Ticarcillin /clavulanic Acid.

**TEM:** Temoniera.

**TYS :** *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut.

**TYTO :** *Thymus numidicus* Poiret.

**UFC :** Unité de Formation de la Colonie.

## Glossaire

**Arôme** : s'emploie pour caractériser :

-L'odeur des corps volatils issus des aliments ou boissons et perçue au cours de leur dégustation :

-La propriété odorante des aliments et boissons responsable de la flaveur.

**Anti-inflammatoire** : qui fait dégonfler et diminuer l'irritation .La plupart des anti-inflammatoire sont aussi antidouleurs.

**Antiseptique** : se dit d'un agent,d'un médicament propre à prévenir les infections.

**Aromathérapie** : thérapeutique basée sur l'utilisation des H.E., et reposant sur des principes proches de l'allopathie en utilisant les propriétés des molécules aromatiques. L'aromathérapie de terrain se rapproche de la naturopathie en corrigeant certaines causes organiques de maladies.

**Biothérapies** : soins préventifs et curatifs naturels qui comprennent une association de méthodes synergiques telles que : homéopathie, phytothérapie (plantes médicinales), phyto-gemmothérapie (emploi de bourgeons de plantes), oligothérapie, organothérapie, vitaminothérapie, neuralthérapie...

**Cellules sécrétrices** : les cellules sécrétrices se rencontrent dans l'épiderme et dans les tissus plus profonds des végétaux .Ce sont certaines cellules épidermiques de tiges, de feuilles, de pétales et d'écaillés. Elles diffèrent des autres cellules épidermiques par leur taille plus petite et par l'absence fréquente de cutine dans leurs parois.

**Fongicide** : se dit d'un médicament qui agit contre les infections provoquée par les champignons ou les levures parasites.

**Insecticides** : se dit d'un agent, d'un médicament propre à prévenir les infections.

**Odeur** : émission de molécules volatiles perçues par le système olfactif. S'applique plus particulièrement aux matières premières simples par opposition à « fragrance ».

**Odoriférant** : qui diffuse une odeur agréable.

**Plantes aromatiques** : végétaux dont on peut extraire des éléments naturels volatils et odoriférants.

**Phytothérapie** : Est l'art de soigner par les plantes médicinales.

**Terpène** : Molécule souvent présente dans la composition des huiles essentielles.

**Relaxant** : action calment qui diminue l'excitabilité du système nerveux.

**Agent antimicrobien** : agent qui tue les microorganismes ou inhibe leur développement.

**Stimulant** : qui excite le système nerveux sympathique.

**Synergie**: association de plusieurs facteurs ou de plusieurs méthodes vers la même action physiologique.

**Terpénoïde** : Le terme de Terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale. Les terpénoïdes sont considérés en tant que métabolites secondaires qui jouent des rôles écologiques.

**Tonifiant** : qui recharge le système nerveux sympathique.

**Trichome glandulaire** : Projections microscopiques spécialisées se retrouvant sur plusieurs surfaces des plantes, leur fonction primaire est d'augmenter les chances de survie de la plante. Elles contiennent les huiles volatiles et d'autres sécrétions recouvrant la surface des feuilles et des pétales.

**Volatil** : désigne une molécule légère pouvant s'évaporer et permettant ainsi d'être perçue comme odeur.

# *Introduction*

## Introduction

Le phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques augmente régulièrement que ce soit en milieu communautaire ou hospitalier et constitue un véritable problème de santé publique. Les bactéries développent, de plus en plus, de la résistance en s'adaptant aux thérapies antibactériennes et de ce fait l'échec de traitement (Philippon, 2008 ; Kempf et al., 2011). Environ 90-95% de souches de *Staphylococcus aureus* dans le monde sont résistantes à la pénicilline et dans la plupart de pays asiatiques 70-80% des mêmes souches sont résistantes à la méthicilline (Hemaiswarya et al., 2008).

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

Des études montrent que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un important potentiel en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux. La diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés, ainsi qu'une utilisation moins dommageable, car ils n'ont pas d'effets secondaires (Amarti et al., 2008 ; Mazari et al., 2010 ; Goetz et Ghedira, 2012). Pour la même raison, aucune résistance particulière vis-à-vis des huiles essentielles n'a été décrite et il est important de souligner que certains d'entre elles constituent des alternatives efficaces ou des compléments aux antibiotiques sans montrer le même effet secondaire (Amarti et al., 2010; Rosato et al., 2010).

De nombreuses études le plus souvent *in vitro* se sont intéressées également à l'étude de l'association antibiotiques et huiles essentielles pour surmonter les problèmes de résistance et les effets secondaires associés aux médicaments. Ces recherches révèlent une synergie intéressante entre les antibiotiques et les huiles essentielles étudiées (Rosato et al., 2010 ; Zafar et al., 2010 ; Milenković et al., 2015).

Il est noté que la plupart des espèces de la famille de *Lamiaceae* sont des sources riches en terpénoïde et contiennent des quantités considérables de divers constituants tels glycosides, flavonoïdes et acides phénoliques (acide rosmarinique) (Sytar et al., 2015).

L'objectif de notre étude est de ce fait de mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles de cinq espèces de la famille de *Lamiaceae* qui sont : *Lavendula stoechas* L., *Mentha pulegium* L., *Origanum glandulosum* Desf., *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. et *Thymus numidicus* Poiret, contre deux souches bactériennes multirésistantes : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et *Escherichia coli* productrice de  $\beta$ -

Lactamases à Spectre Elargi (BLSE) et leurs associations avec les antibiotiques auxquels résistes.

De ce fait nous avons commencé par une étude bibliographique qui consiste à donner un aperçu général sur les huiles essentielles et la résistance bactérienne.

Pour la partie expérimentale nous avons essayé de traiter les étapes suivantes :

- Antibiogramme de vérification pour les souches d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* résistant aux antibiotiques ;
- Etude de la cinétique de croissance des souches en milieu liquide (courbe d'étalonnage et courbe de croissance) ;
- Recherche de l'activité antibactérienne des huiles essentielles par la méthode des disques (aromatogramme sur milieu solide) ;
- Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) par la méthode en microdilution (aromatogramme en milieu liquide) ;
- Etude de l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques auxquels résistes les souches ;
- Etude de l'effet des huiles essentielles actives sur la cinétique de croissance bactérienne.



*Synthèse*  
*Bibliographique*

*Chapitre I. Les  
huiles essentielles*

## I. 1. Généralités sur les huiles essentielles

L'aromathérapie vient du latin *aroma*, arôme, et du grec *thérapie*, traitement qui signifie le traitement des maladies par les *arômes*, *l'aromathérapie* et qui se définit littéralement comme une partie de la *phytothérapie* qui utilise les huiles essentielles. Dans le domaine médical, l'aromathérapie se définit comme une thérapeutique utilisant les huiles essentielles végétales par voie interne ou externe pour soigner ou prévenir les maladies (Lardry et Heberkorn, 2007).

### I.1.1. Définition

Les huiles essentielles (HE) sont des huiles tirées à base des plantes, avec un arôme propre à chacune d'elles. Ce sont des métabolites secondaires, des mélanges de substances aromatiques volatiles et odoriférantes qui sont présentes en faible quantité dans le végétal (Santoro et al., 2007 ; Hajlaoui et al., 2009; Abough- Angone et al., 2015).

Les huiles essentielles ne contiennent pas des corps gras comme les huiles végétales. Le terme "huile" vient de leur caractère hydrophobe et de leur propriété de se solubiliser dans les graisses, alors que le terme "essentielle" fait référence à l'odeur dégagée par la plante productrice (Bouhdid et al., 2012).

La norme AFNOR NF T 75-006 a donné la définition suivante d'une huile essentielle : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ».

### I.1.2. Localisation et rôle des huiles essentielles

Les HE sont formées dans des cellules spécialisées et sont stockées dans les cellules sécrétrices, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou trichomes glandulaires. Elles sont synthétisées par tous les organes de la plante, à savoir les bourgeons, les fleurs, les feuilles, les tiges, les brindilles, les graines, les fruits, les racines, le bois ou l'écorce (Böhme et al., 2014 ; Akthar et al., 2014).

Elles jouent un rôle important dans la défense des plantes et des forêts contre les agressions naturelles, mais aussi pour lutter contre la sécheresse en contribuant à la pluviosité. Leur composition varie souvent selon les conditions climatiques et l'environnement (Soualeh et Soulimani, 2016).



### I.1.3. Les propriétés physico-chimique des huiles essentielles

Selon (Bardeau, 1976 ; Legrand, 1978 ; Iemberg, 1982 ; Bruneton, 1999), les HEs possèdent en commun un certain nombre de propriétés physique :

- elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur ;
  - leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C ;
  - leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0.75 à 0.99 (les huiles essentielles sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions) ;
  - elles ont un indice de réfraction élevé ;
  - elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée ;
  - elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels ;
  - ce sont des parfums, et sont de conservation limitée ;
  - sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas) ;
  - ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes très odorantes et volatiles.
- à température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe cependant quelque exceptions, exemple : huile essentielle à azulène de coloration bleue (Bekhechi et Abdelouahid, 2014).

### I.1.4. Utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement utilisées pour leur effet bactéricide, virucide, fongicide, antiparasitaire, insecticides, médicaments et dans les applications cosmétiques, surtout de nos jours dans les industries pharmaceutiques, sanitaires, cosmétiques, agricoles et alimentaires (Aridogan, 2002) Beaucoup d'herbes aromatiques sont utilisées dans la cuisine, comme le basilic, le thym, la coriandre, le romarin, l'aneth, l'origan et la baie. Certains sont ivres dans les tisanes, y compris menthe, fleur de chaux et de camomille. (Moro-buronzio, 2008).

### I.2. Compositions des huiles essentielles

Certaines huiles essentielles sont presque exclusivement constituées d'une seule molécule (Lamendin *et al.*, 2004), de deux ou trois molécules (*Salvia sclarea rosaedora*, *Citrus reticulata*, *Eugenia caryophyllus*), mais la plupart sont polymoléculaires (molécules de même famille chimique ou non) (Lamendin *et al.*, 2004) et peuvent contenir approximativement 20 à 60

composants à des concentrations complètement différentes. Elles sont caractérisées par deux ou trois composants majeurs à des concentrations moyennement élevées (20-70%) par rapport aux autres composants qui sont présents en faible quantité (**Bakkali et al., 2008**).

Ces constituants appartiennent à deux groupes distincts :

- le groupe des terpénoïdes
- le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (phénylpropanoïdes).

### I.2.1. Terpénoïdes

Les mélanges des terpènes (ou terpénoïdes) et leurs dérivés sont généralement responsables de la caractéristique aromatique de la matière végétale (**Lamarti et al., 1994; Reverchon et al., 1995**). Ils constituent un vaste groupe de métabolites secondaires avec plus de 30000 structures diverses (**Judd, et al., 2002 ; Julsing et al., 2006**).

Les terpènes peuvent être considérés comme des dérivés de l'isoprène (figure 01) : ce sont des *isoprénoïdes* (Guignard, 2000)

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes proprement dits ou *monoterpènes* en C<sub>10</sub>, les *sesquiterpènes* en C<sub>15</sub>, les *diterpènes* en C<sub>20</sub>, les *triterpènes* (C<sub>30</sub>) (ex. *stéroïdes*), les *tetraterpènes* (C<sub>40</sub>) (ex. *caroténoïdes*), et les *polyterpènes* (**Guignard, 2000 ; Liao et al., 2006**).

Les constituants d'huile essentielle sont principalement les mono- et sesquiterpènes ; les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire est faible (**Bruneton, 1999 ; Julsing et al., 2006**).

#### I.2.1.1. Monoterpènes

Les monoterpènes sont constitués par 10 atomes de carbone ou deux unités isopréniques. Ils sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des huiles essentielles (**Lamarti et al., 1994**). Ils se composent de plusieurs fonctions.

#### I.2.1.2. Sesquiterpènes

Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools, cétones étant les plus fréquents (**Bruneton, 1999**). Ces constituants importants des huiles essentielles, trouvent beaucoup d'applications dans le domaine médical, mais également rentrent dans les formulations de savon et de parfum (**Merfort, 2002**). quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : carbures mono- ou polycycliques ( $\beta$ -bisabolène,  $\beta$ -caryophyllène, longifolène). Alcools (farnésol, carotol,  $\beta$ -santalol, patchoulol), cétones

(nootkatone, *cis*-longipinane-2,7-dione,  $\beta$ -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (Bruneton, 1999).

Un autre type de terpénoïdes, où le groupement méthyle d'isopropyle est oxydé en groupement lactone (Merfort, 2002), les lactones sesquiterpéniques (figure 03), est surtout connu chez les *Asteraceae* (où ces lactones sont diversifiés et utiles pour la taxonomie), mais on le trouve dans quelques autres familles, comme les *Apiaceae*, les *Mognoliaceae* et les *Lauraceae* (Judd *et al.*, 2002). Ces composés sont intéressants non seulement en point de vue chimique et chimiotaxonomique, mais également parce qu'un nombre important d'entre eux possède des activités biologiques et thérapeutiques (propriétés anti inflammatoires ,antitumorales ,antimicrobiennes, etc.) (Merfort, 2002).

### I.3. Activité des huiles essentielles

Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelque fois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (Goetz et Ghedira, 2012).

Ces huiles possèdent plusieurs propriétés telles que : les propriétés relaxantes, tonifiantes, énergisantes, régénérantes, assainissantes, désodorisantes, antiinflammatoires, antioxydantes. Ces propriétés s'expliquent par la composition biochimique de ces huiles. Elles sont très souvent composées d'alcools, cétones, sesquiterpènes, monoterpènes, diones, aldéhydes terpéniques, esters, azulènes, et d'oxydes (Abough-Angone *et al.*, 2015).

#### I.3.1. Activité biologique des huiles essentielles

##### I.3.1.1. Les ester

Ils agissent directement sur le système nerveux central. Ils ont une action équilibrante et apaisante, des propriétés anti-inflammatoires et de régénération des cellules. Parmi les huiles essentielles riches en esters y a les lavandes, la sauge, le camomille et le romaine (Moro Buronzo, 2008).

##### I.3.1.2. Les phénols

Ils ont une action stimulante. Ils sont antiseptiques et bactéricides et protégeant ainsi l'organisme des contaminations. Ces composants sont très irritants pour la peau et les muqueuses, aussi faut-il utiliser les huiles essentielles qui en sont riches en basse concentration et pour de courtes périodes. Parmi les huiles essentielles riches en phénols, on trouve celles de thym, d'origan, de cannelle, de clou de girofle et de sarriette (MoroBuronzo, 2008).

### I.3.1.3. Les aldéhydes

Ils ont une action relaxante et calmante, et sont aussi anti-inflammatoire. Ils donnent un parfum d'agrumes à certaines huiles. Parmi les huiles essentielles riches en aldéhydes, citons celles d'orange, de clou de girofle, de mélis de citronnelle et de cannelle (MoroBuronzo, 2008).

### I.3.1.4. Les cétones

Ils ont une action relaxante et sédative. Ils possèdent des propriétés cicatrisantes et aident à éliminer le mucus. Parmi les huiles essentielles à cétone, nous trouvons celles d'eucalyptus, de romarin, de sauge et de niaouli (Moro Buronzo, 2008).

### I.3.1.5. Les alcools

Ils comptent parmi les molécules les plus bénéfiques dans les huiles essentielles en raison de leurs propriétés antiseptiques, antivirales, analgésiques et immunostimulantes. Parmi les huiles essentielles riches en alcools, y a la menthe, la lavande et l'arbre à thé (MoroBuronzo, 2008).

### I.3.1.6. Les terpènes

Très répandus dans l'ensemble des huiles essentielles, ils ont une action stimulante et tonique. Certains ont des propriétés antivirales, même à très basse concentration. Parmi les huiles essentielles riches en terpènes, nous comptons celles de pin, de menthe, de citron, de cyprès, de genièvre et de romarin (Moro Buronzo, 2008).

### I.3.1.7. Les acides

Ils sont présents en petites quantités, mais ils ont une action puissante, anti-inflammatoire et sédative. Parmi l'huile essentielle riche en acides, citons le géranium, le néroli et le genièvre (Moro Buronzo, 2008).

### I.3.1.8. Les sesquiterpènes

Ils ont une action équilibrante pour le système immunitaire. Ils possèdent aussi des propriétés antivirales. Parmi les huiles essentielles riches en sesquiterpènes, on compte notamment celles de clou de girofle, de genièvre et de camomille (Moro Buronzo, 2008).

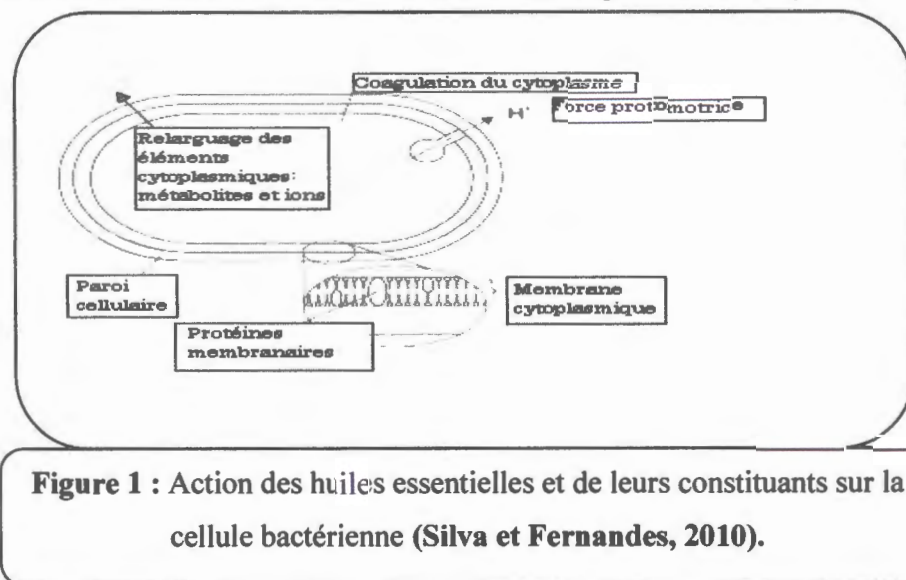
## I.3.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Une très grande variété des huiles essentielles est connue pour exercer des propriétés antimicrobiennes. L'activité antibactérienne de ces HEs est due à la présence de substances telles que le thymol, le carvacrol, l'eugénol, le cinnamaldehyde. Plusieurs études ont ainsi montré l'apparition de fuites d'ions potassium dans des cellules microbiennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) en contact avec de l'huile essentielle d'arbre à thé (tea tree). Cette fuite de potassium est la première épreuve de l'existence de lésions irréversibles au niveau de la membrane

de la bactérie, rendent perméable la membrane des bactéries ce qui conduit à mort cellulaire. Les huiles essentielles ont donc bien des propriétés bactéricides (Mathlouthi et al., 2009; Bassolé et Juliani, 2012; Zhiri, 2006).

### I.3.2.1. Sites d'action des HEs

La structure chimique des constituants des HEs conditionne leur mode d'action antibactérienne. Compte tenu du nombre des différents groupes de composés chimiques présents dans les HEs, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuée à un mécanisme spécifique mais qu'il y ait plusieurs cibles dans la cellule. Les principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles sont indiquées dans la figure 4 :



Les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des huiles essentielles sont :

- l'altération de la paroi cellulaire ;
- la dégradation de la membrane cytoplasmique ;
- l'altération des protéines membranaires ;
- la fuite du contenu cellulaire ;
- la coagulation du cytoplasme ;
- l'épuisement de la force de mouvement des protons ;

Une caractéristique importante des huiles essentielles et de leurs constituants est leur caractère hydrophobe, ce qui leur permet de s'insérer dans les couches lipidiques de la membrane cellulaire bactérienne et des mitochondries, perturbant ainsi les structures et les rendant plus perméables. La fuite des ions et autres constituants de la cellule peut alors se produire.



Bien qu'une certaine proportion de fuite de cellules bactériennes puisse être tolérée sans perte de viabilité, une perte importante du contenu de la cellule ou la sortie de molécules HE et d'ions peut amener la mort bactérienne (Goetz et Ghedira, 2012).

#### I.3.2.2. Mode d'action antifongique des huiles essentielles

L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure. En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures, exemples des huiles essentielles qui inhibe la croissance des levures : *Melaleuca alternifolia* (arbre à thé), nombreuses espèce de *Thymus* (thym) (Giordani et Kaloustian, 2006).

#### I.4. Phototoxicité des huiles essentielles

Certaines huiles essentielles contiennent des molécules photoactives telles que furocoumarines. Des réactions radicalaires par excitation de certaines molécules et le transfert d'énergie avec production d'oxygène singlet se produisent lorsque les cellules sont exposées à la lumière d'activation. Cela peut provoquer des dommages des macromolécules cellulaires et, dans certains cas, la formation des molécules covalents à l'ADN, aux protéines et aux membranes lipides (Bakkali et al., 2008).

#### I.5. Cancérogénicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ou plutôt certains de leurs constituants peuvent être considérés comme cancérogènes secondaires après activation métabolique. Par exemple, les huiles essentielles de *Salvia sclarea* et *Niaouli* provoquent des sécrétions d'oestrogènes ce qui peut induire des cancers dépendant des oestrogènes. Certaines d'autres contiennent des molécules photo sensibilisantes comme flavines, cyanine, porphyrines, hydrocarbures qui peuvent causer des cancers. Psoralène, une molécule photosensibilisant trouvé dans quelques huiles essentielles, par exemple de *Citrus bergamia* (= *Citrus aurantium* ssp. *bergamia*), peut induire le cancer de la peau après formation d'adduits d'ADN covalent sous ultraviolet A ou de la lumière solaire (Bakkali et al., 2008).

#### I.6. Association huiles essentielles antibiotiques

Effet synergique de l'association d'antibiotiques avec des extraits de plantes contre les bactéries résistantes conduit à un nouveau choix pour le traitement des maladies infectieuses. Cet effet permet l'utilisation de l'antibiotique respectif quand il n'y a pas de plus efficace par lui-même

au cours du traitement thérapeutique. Différentes combinaisons des HEs et des antibiotiques ont démontré un effet de renforcement, qui est importante pour la restauration de l'activité des antibiotiques inactifs et de prolonger leur activité. La combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques conventionnels pourrait être une alternative efficace dans le traitement des infections causées par le SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline). Les huiles essentielles de *multiflora Zataria* ont démontré une activité élevée contre les isolats cliniques de SARM et de *S. aureus* sensible à la méthicilline (MSSA) ( Nascimento *et al*, 2000 ; Milenković *et al.*, 2015).

*Chapitre II. La  
résistance aux  
antibiotiques*

**II.1. Généralités sur les antibiotiques**

Après un demi-siècle de l'utilisation des antibiotiques, l'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne à cette classe thérapeutique posent un problème de santé publique important dont la maîtrise constitue un défi pour les cliniciens, les microbiologistes, les hygiénistes et les autorités. Les progrès de la recherche ont permis, jusqu'aux années 1990, le développement incessant de nouvelles molécules de mécanismes d'action variés et complémentaires, permettant de répondre de façon adaptée à l'évolution de la résistance (Bertrand *et al.*, 2005 ; Kipnis 2012).

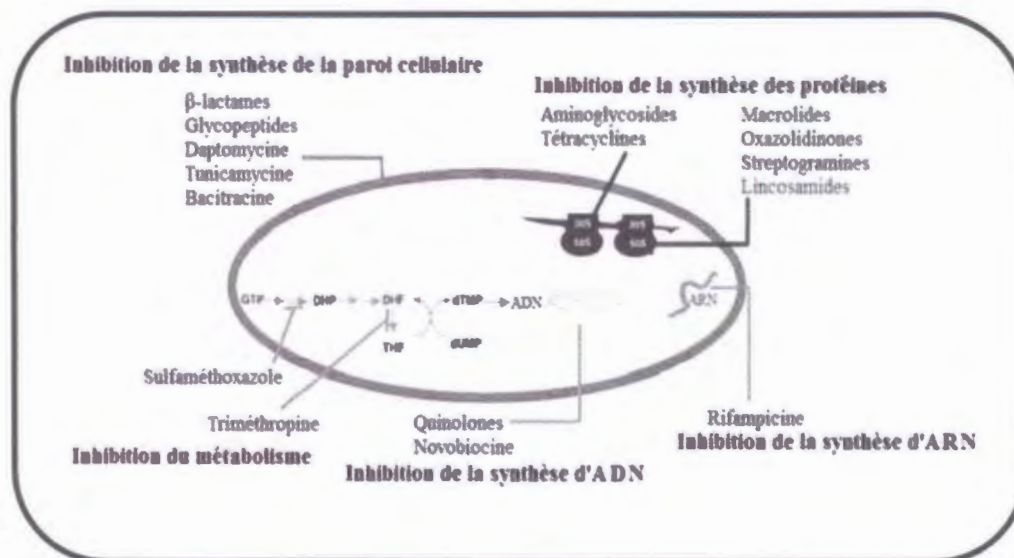
L'utilisation massive et non contrôlée des antibiotiques a favorisé l'accumulation de mécanismes de résistance et fait apparaître des souches dites multi-résistantes au sein de certaines espèces bactériennes (Doit, 2015).

**II.1.1. Définition**

Le terme antibiotique (du grec *anti* : contre, *biotikos* : concernant la vie) est utilisé pour la première fois en 1889. Un antibiotique est une molécule naturelle, synthétique ou semi-synthétique dont le rôle est de détruire les micro-organismes et les bactéries (effet bactéricide) ou d'en bloquer la croissance (effet bactériostatique) (Muylaert et Mainil, 2012; Aouni *et al.*, 2013).

**II.1.2. Site et mode d'action des antibiotiques**

Il existe deux grands lieux d'action : La paroi et le cytoplasme (figure 5) :



**Figure 2 : Les différents modes d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006).**

### II.1.3. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- a) l'**origine** : élaboré par un organisme (nature) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- b) le **mode d'action** : inhibition de la synthèse de la paroi, de la membrane cytoplasmique, des protéines ou des acides nucléiques.
- c) le **spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).
- d) la **nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex: cycle  $\beta$ -lactame) sur laquelle il y a héli-synthèse (Rahal, 2013).

### II.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène biologique que la médecine aura du mal à faire disparaître. Un micro-organisme est considéré «résistant» lorsque sa Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Carle, 2009 ; Barchan et Bakkali, 2015).

#### ➤ Résistance naturelle (ou intrinsèque)

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère de l'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) (Lozniewski et al., 2010).

#### ➤ Résistance acquise

Les bactéries peuvent développer la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme) (exemple : production de pénicillinase chez le staphylocoque qui intéresse plus de 90 % des souches) (Carle, 2009 ; Courvalin, 2007).

Une fois une résistance acquise, elle peut diffuser dans la population bactérienne. La transformation permet le passage d'ADN nu du donneur au receveur. Dans la transduction, le transfert est assuré par un virus bactériophage qui utilise son équipement moléculaire spécialisé pour insérer l'ADN bactérien dans les bactéries receveuses. La conjugaison est la méthode de transmission la plus fréquente. Ce transfert nécessite un contact physique entre

deux bactéries, un pont cytoplasmique se met alors en place et les bactéries peuvent échanger leur plasmide porteur de résistance (Bennett, 2008 ; Martinez, 2009).

### II.3. Mécanismes de résistances

#### II.3.1. Altération (ou modification) des sites de liaison

Phénomène engendré par des chromosomes ou des plasmides, ce mécanisme de résistance produit une baisse d'affinité à l'antibiotique pour son site d'action.

##### ➤ Altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) aussi connues sous PBP (Penicillin Binding Protein)

Ce phénomène réduit l'affinité de la cible (PLP) pour les  $\beta$ -lactamines soit par une mutation des gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires exprimant de nouvelles PLP. Ce mécanisme de résistance est important chez les cocci à Gram positif, comme le *Staphylococcus aureus* et le *Streptococcus pneumoniae*, alors qu'il est beaucoup plus rare chez les bactéries à Gram négatif. Parmi les bactéries à Gram négatif, la résistance par altération des PLP observées chez les espèces du genre *Neisseria* et, plus rarement, chez l'*Haemophilus influenzae* (Carle, 2009).

##### ➤ Altération des sites de liaison ribosomaux

Cette altération provoque l'incapacité d'inhiber la synthèse protéique et la croissance bactérienne pour les antibiotiques qui ne peuvent plus se lier au site ribosomal (Carle, 2009).

##### ➤ Altération de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase

Des mutations spontanées d'un seul acide aminé de l'ADN gyrase engendrent de la résistance. Il en est de même pour les mutations de la topoisomérase IV (Carle, 2009).

##### ➤ Altération des précurseurs cibles de la paroi cellulaire bactérienne

Ce phénomène peut être induit par l'utilisation de la vancomycine, comme pour l'entérocoque résistant à la vancomycine (Carle, 2009).

##### ➤ Altération des enzymes cibles

Une modification de la dihydroptéroate synthétase résistante à la liaison avec les sulfamidés et de la dihydroptéroate réductase insensible au triméthoprim entraîne également une résistance. La résistance des bactéries à Gram négatif envers les sulfamidés est attribuée aux plasmides générant des enzymes résistantes (Carle, 2009).

### II.3.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêche la fixation de l'antimicrobien sur la cible et provoque une perte d'activité.

Les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes, sont de type hydrolyses, acétylations, phosphorylations, nucléotidylations, estérifications, réductions et réactions d'addition d'un glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Hemaiswaryaa *et al*, 2008 ; Muylaert et Mainil, 2012).

### II.3.3. Imperméabilité membranaire

Diminution quantitative ou modification des porines en provoquant la résistance par défaut de pénétration passive de l'antibiotique (canaux de pénétration des antibiotiques à travers la membrane externe de la bactérie) (Rahal, 2013).

### II.3.4. Pompes à efflux

Les pompes à efflux présentes dans les parois bactériennes représentent un mode de résistance de bas niveau (présent à la fois chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif). Ce sont des transporteurs membranaires qui expulsent l'antibiotique de la cellule et l'empêchent d'atteindre des concentrations adéquates. Ces pompes sont spécifiques à une ou plusieurs classes d'antibiotiques (Ex : *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pneumoniae*) (Doléans-Jordheim *et al.*, 2008).

## II.4. Méthodes microbiologiques de détection de la résistance aux antibiotiques

L'activité antibactérienne d'un antibiotique est caractérisée en pratique par la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et par la CMB (Concentration Minimale Bactéricide) (Cornut et Chiquet, 2008).

- **Antibiogramme**

L'antibiogramme est un test particulier en biologie clinique car il s'adresse à des êtres vivants infectieux et non au corps humains. Il constitue l'outil de mesure de la résistance bactérienne (Marcel, 2005).

- **Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'un antibiotique, correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible des bactéries d'un inoculum dont la taille est prédéfinie ( $10^4$  à  $10^5$  bactéries), dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 24 heures d'incubation, à pression atmosphérique et

à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobies (Schelz,2006 ;Muylaert et Manil, 2012).

- **Concentration Minimale Bactéricide (CMB)**

La CMB est la concentration minimale d'antibiotique qui laisse au sein de l'inoculum initial 1 survivant sur 10 000 après 18 heures de culture à 37 C, soit 0,01 % de l'inoculum de départ (Cornut et Chiquet., 2008).

## II.5.Quelques exemples des espèces résistant aux antibiotiques

### II.5.1. Résistance de *S. aureus* à la méthicilline (SARM)

*S. aureus* possède quatre isoformes natives de protéines liant les pénicillines (PBP pour Penicillin Binding Protein), une famille de protéases à sérine intervenant dans la synthèse du peptidoglycane. Elles sont la cible des bêtalactamines qui empêchent ainsi la constitution de la paroi bactérienne, conduisant à la mort de la bactérie.

La résistance à la méticilline est attribuée à la modification d'une des protéines liant la pénicilline (PLP) au niveau de la paroi bactérienne. Cette résistance est due à la présence du gène *mecA* présent dans la cassette SCCmec, élément génétique mobile intégré dans le chromosome. Ce gène code pour une transpeptidase appelée PLP2a, qui a une affinité réduite pour toutes les bêtalactamines. Il ne se retrouve donc pas dans le *S. aureus* sensible à la méticilline ou *S. aureus* présentant une résistance limite ou de bas niveau à la méticilline (Hamze et al., 2003 ; Forestier et al.,2007).

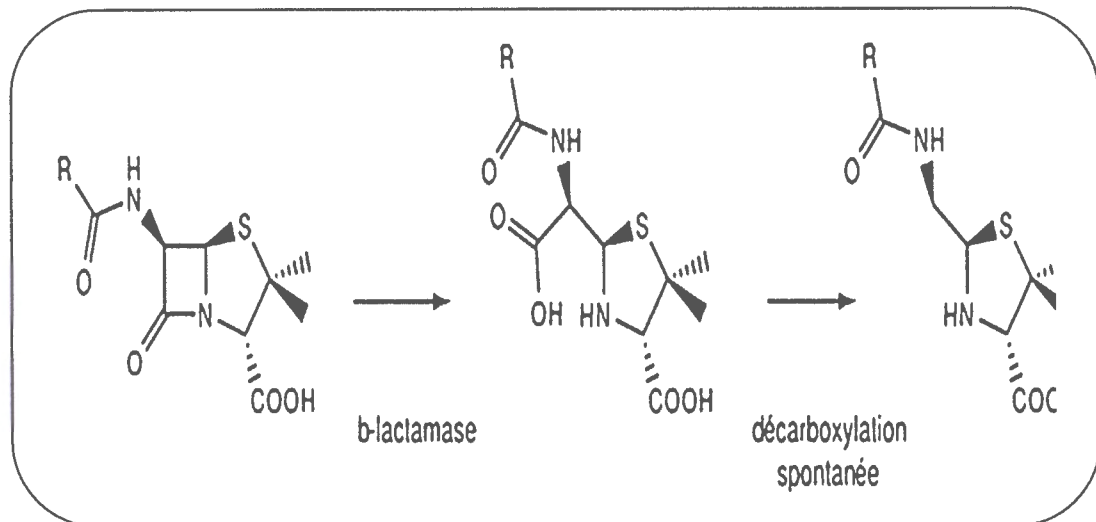
### II.5.2. *E. coli* résistant aux B-Lactamines à Spectre Elargi (BLSE)

La première BLSE de type CTX-M (FEC-1) (Cefotaximase-Munich) a été décrite chez une souche d'*E.coli* au Japon en 1986. La première description des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) en tant que mécanisme de résistance transférable remonte à 1983 par Knothe et al. (Elhani, 2012 ; Legeay et al., 2016).

Les gènes CTX-M, naturellement à médiation chromosomique chez les espèces d'entérobactéries du genre *Kluyvera* (*K. ascorbata*, *K. cryocrescens*, *K. georgiana*), transmis aux entérobactéries par un plasmide, s'expriment alors fortement chez ces dernières. Le plasmide, facilement transmissible par conjugaison *in vitro* entre entérobactéries, est l'élément incontournable à l'émergence des BLSE de type CTX-M. Cette propriété explique la dissémination facile des enzymes de type CTX-M dont l'importance augmente par rapport aux autres types de BLSE, notamment TEM et SHV (Adjidé et al., 2006; Anastay et al., 2013 ; Bréchet et al., 2015 ).



Les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE), sont des enzymes acquises par les entérobactéries leur permettant d'hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame (figure 6), et leur conférant une résistance aux  $\beta$ -lactamines à l'exception des carbapénèmes et céphamycines qui sont la cible des inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases comme l'acide clavulanique (fouquet et *al.*, 2012; Ndoutamia et *al.*, 2015 ).



**Figure 3 : Mécanisme d'hydrolyse d'une  $\beta$ -Lactamine par une  $\beta$ -lactamase (Ruppé, 2010)**

*Partie*  
*expérimentale*

*Chapitre III.*  
*Matériel et*  
*méthodes*

### III.1. Matériel utilisé

#### III.1.1. Matériel végétal et antibiotiques

Notre étude a porté sur cinq huiles essentielles extraites à partir de plantes médicinales aromatiques de la région de Bejaia qui sont : *Origanum glandulosum* Desf. (OG) *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. (TYS), *Thymus numidicus* Poiret.(TYTO), *Lavandula stoechas* (LS) et *Mentha pulegium* (MP) (Annex I)

L'identification des plantes a été faite en se référant à la Flore d'Algérie (Quezel et Santa 1963) au Laboratoire de Physiologie Végétale et d'Ecologie à l'Université de Bejaia par Mr Bekkdouche F.

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation, par M<sup>me</sup> BEKKA Fahima. La conservation de ces dernières s'est faite à 4°C dans de petits flacons en verre opaque ou entourés du papier aluminium et fermé hermétiquement, pour une utilisation ultérieure

Huit disques d'antibiotique sont utilisés pour réaliser l'antibiogramme, il s'agit de :

- Ceftazidime (CAZ<sub>30</sub>) ;
- Cefotaxime (cephotaxime) (CTX<sub>30</sub>).
- Oxacillin (OX<sub>5</sub>) ;
- Cefoxitin 30 meg (FOX<sub>30</sub>) ;
- Amoxyclav (AMC<sub>30</sub>) ;
- Ciprofloxacine (CIP<sub>5</sub>) ;
- Aztreonam (AT<sub>30</sub>).

#### III.1.2. Matériel biologique

Notre étude a portée sur deux souches bactériennes multirésistantes, qui sont: *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline SARM (code 019) et *Escherichia coli* résistant aux  $\beta$ -Lactamines à Spectre Elargi BLSE (CTX-15) (code 87). Les caractéristiques de ces souches sont reportées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau I : Caractéristiques des souches testées**

Souches testées	La résistance	Caractère bactériologique
<i>S.aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM) (code 019)	Résistance à la Méthicilline	Gram <sup>+</sup> , Mec A, PVL <sup>+</sup> , SCC mec IV <sub>c</sub>
<i>Escherichia coli</i> résistant à $\beta$ -Lactamine à Spectre Elargi (CTX-15) (code 87)	Résistance aux BLSE	CTX-15

### III.1.3. Matériel du laboratoire

- **Appareillage**

Le matériel utilisé tout au long du travail est le suivant :

- Etuve (37°C et 30°C)
- Autoclave
- Plaque chauffante agitatrice
- Incubateur agitateur
- Microcentrifugeuse
- Spectrophotomètre
- Microscope à caméra
- Bain marie
- Balance
- Bec Bunsen
- Vortex
- pH mètre
- Microscope optique

- **Les milieux de culture (composition chimique, Annexe II)**

Les milieux de culture utilisés sont :

- Gélose Mueller Hinton ;
- Bouillon Mueller Hinton additionné de tween 80 ;
- Gélose nutritive ;
- Bouillon nutritive.

- **Produits chimiques, réactifs et tampons**

Au cours de notre travail, nous avons utilisé :

- Violet de Gentiane, lugol, alcool, fuschine et l'huile à émersion pour la coloration de Gram ;
- Eau physiologique stérile ;
- Eau distillée stérile ;
- Tween 80 ;
- DMSO ;
- NaOH (0,1 N) et HCl (0,1 N) auster le pH ;
- Tampon 4 et tampon 7 pour calibrer du pH mètre ;

## III.2. Méthodes

### III.2.1. Cinétique de croissance bactérienne

#### III.2.1.1. La courbe d'étalonnage

Une longueur d'onde maximale de 580 nm (Rasooli et Mirmostafa, 2003) pour la souche à tester est introduite dans le spectrophotomètre et une suspension bactérienne initiale correspondant à une absorbance de 0,65 pour *E. coli* et 0,604 pour le SARM est préparée.

A partir de cette suspension d'autres suspensions diluées sont préparées et qui sont de dilutions 0,36 ; 0,13 et 0,065 pour *E. coli* et 0,34 ; 0,158 et 0,08 pour le SARM.

A partir de ces suspensions bactériennes une série de dilutions décimales est effectuée ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ). 0,1 ml de chaque dilution servent ensuite pour l'ensemencement de deux boîtes de la gélose Nutritive à l'aide d'un râteau étaleur. Un dénombrement est alors effectué après incubation à 37°C pendant 24 heures.

#### III.2.1.2. La courbe de croissance

Ensemencer 100 ml du bouillon Mueller Hinton par 9 ml de la culture bactériennes fraîches. Incuber à 37°C avec agitation modérée.

Dans des conditions aseptiques, prélever 2ml du milieu de culture avant incubation (T0) puis après chaque 15 min du temps d'inoculation (T1, T2, T3,...), sur une durée d'environ 24 heures pour *E. coli* et 48 heures pour SARM

Mesurer la densité optique des échantillons à 580 nm, après avoir mesuré la valeur du blanc dans le spectromètre (bouillon Mueller Hinton). Représenter les courbes de la DO en fonction du temps.

## III.3. Activité antibactérienne

### III.3.1. Antibiogramme des souches testées

La sensibilité de la souche testée vis-à-vis des antibiotiques de différentes familles, a été déterminée par la méthode de diffusion suivant les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015).

Des disques d'antibiotiques sont déposés sur des boîtes contenant de la gélose Mueller Hinton ensemencées préalablement par écouvillonnage par une suspension bactérienne adéquate ( $10^8$ UFC/ml pour le SARM et  $10^7$ UFC/ml pour *E. coli*).

Pour le SARM l'antibiogramme est réalisé avec OX et FOX et pour *E. coli*, nous avons fait le DD-Test qui consiste à placer des disques de céftazidime, céfotaxime, aztréonam et

ciprofloxacine à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline-clavulanate). Et dans le but de rechercher des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases, nous avons réalisé le DD-test en remplaçant le disque d'augmentin avec les huiles essentielles.

Après incubation à 37° C pendant 24 h, les diamètres des zones d'inhibition sont déterminés et l'interprétation des résultats s'est faite selon le CLSI (2015).

### III.3.2. Aromatogramme sur milieu solide (méthode des disques)

Des disques de papier Wattman (06 mm) sont disposés à égale distance les uns des autres (jusqu'à 6 disques par boîte) et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose Mueller Hinton préalablementensemencée par écouvillonnage avec la souche teste. Une légère pression sera exercée sur chaque disque afin d'obtenir une bonne adhérence.

Avec une micropipette réglable de 2 à 100  $\mu$ l, nous déposons aseptiquement sur chaque disque 10  $\mu$ l des huiles essentielles.

Les boîtes laissées à 4°C pendant 2h sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition entourant le disque sont mesurés en millimètre. Les essais sont fait en doubles, le résultat étant la moyenne des deux (Rasooli et Mirmostafa, 2003 ; Gachkar et al., 2006).

### III.3.3. Etude de l'association huiles essentielles / antibiotique par la méthode des disques

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'association huiles essentielles/ATBs est celle de diffusion sur milieu solide préconisée par Halawani (2009) ; Mandal et al. (2010) ; Toroglu, (2011).

Un disque d'antibiotique de 6 mm de diamètre est déposé au centre de chaque boîte MH préalablementensemencée (un disque par boîte ou plus selon le besoin). A l'aide d'une micropipette, 10  $\mu$ l d'huile essentielle sont déposés sur chaque disque d'ATB.

Les boîtes sont laissées diffuser à 4°C pendant 2 h puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition est mesuré en mm. Le résultat étant la moyenne de deux essais.

Les données sont analysées comme suit :

- **Indifférence** : lorsque les deux zones d'inhibition restent inchangées.
- **Antagonisme** : lorsque les zone d'inhibition diminuent.
- **Synergie** : lorsque les zones d'inhibition s'élargissent.

### III.3.4. Détermination des Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des huiles essentielles par la méthode de microdilution en milieu liquide

Les CMI sont déterminées en milieu liquide dans un bouillon MH dans un volume final de 200  $\mu$ l, en utilisant des micro-plaques de 96 puits. Des dilutions des huiles essentielles sont effectuées en raison de 1/2, de telle façon à obtenir une gamme de concentrations finales comprises entre 300 et 0,3 mg/mL. À la fin, la microplaque sera inoculée avec de la suspension bactérienne (la charge finale dans la micro-plaques est de  $5 \times 10^5$  UFC/mL). Un contrôle positif de croissance contenant seulement le milieu MH et la souche teste, est utilisé.

Après 24 h d'incubation à 37°C, la lecture se fait par observation de la microplaques à l'œil nu. La CMI de composé testé est déduite à partir du premier puits de la gamme ne présentant pas de dépôt ou trouble (Vardar-Ünlü *et al.*, 2003; Mahboubi et Ghazian Bidgoli, 2010; Mulyaningsih *et al.*, 2010; Rosato *et al.*, 2010; Pavlović *et al.*, 2012).

### III.3.5. Cinétique de croissance de SARM en présence des huiles essentielles

Une quantité de CMI déterminées au paravent des huiles essentielles (OG, TYS, TYTO) sont ajoutées à 10 ml du bouillon MH et qui est inoculé avec une suspension bactérienne de 0,6 ( $5.10^5$ UFC/ml finale dans le bouillon) pour le SARM. L'ensemble est incubé à 37°C sous agitation modérée pendant 4 h.

Des échantillons de 1ml sont prélevés après chaque 1h d'incubation puis centrifugés à 14000 rpm/5min, le surnageant est rejeté et le culot est récupéré dans un 1ml de l'eau physiologique par agitation à l'aide d'un vortex. Une aliquote de 500  $\mu$ l est diluée dans 2.5 ml de l'eau physiologique pour la mesure de la DO, une aliquote de 100  $\mu$ l estensemencée sur la gélose nutritive et une goutte sert pour la réalisation de la coloration de Gram (Gachkar *et al.* 2007).

### III.4. Etude statistique

Les méthodes classiques de statistiques ont été utilisées pour calculer les moyennes et les écarts-types. Toutes les mesures ont été reproduites deux fois et les données sont présentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type.

La différence entre l'activité des huiles essentielles seules et en combinaison avec les ATBs et la détermination des taux de signification sont effectués par le test ANOVA pour les comparaisons multiples. Une probabilité de  $p$  inférieur à 0.05 a été adoptée comme critère de différences significatives.



*Chapitre IV*

*Résultats et*

*Discussion*

## IV.1. Cinétique de croissance

### IV.1.1. Courbes d'étalonnage

Lorsque des cellules sont en suspension dans un milieu liquide traversé par un faisceau lumineux monochromatique, la quantité de lumière absorbée et dispersée par la suspension dépend de la concentration des cellules et de leur taille. La relation entre absorbance et concentration en cellules est linéaire.

Pour déterminer la concentration en cellules d'une suspension de concentration inconnue, nous mesurons l'absorbance d'un échantillon, après dilution si nécessaire, et nous reportons la valeur obtenue sur la droite d'étalonnage pour en déduire sa concentration.

#### IV.1.1.1. Courbe d'étalonnage d'*Escherichia coli* (CTX-M 15) (code 87)

La courbe d'étalonnage de log UFC/ml en fonction de l'absorbance est présentée dans la figure 4.

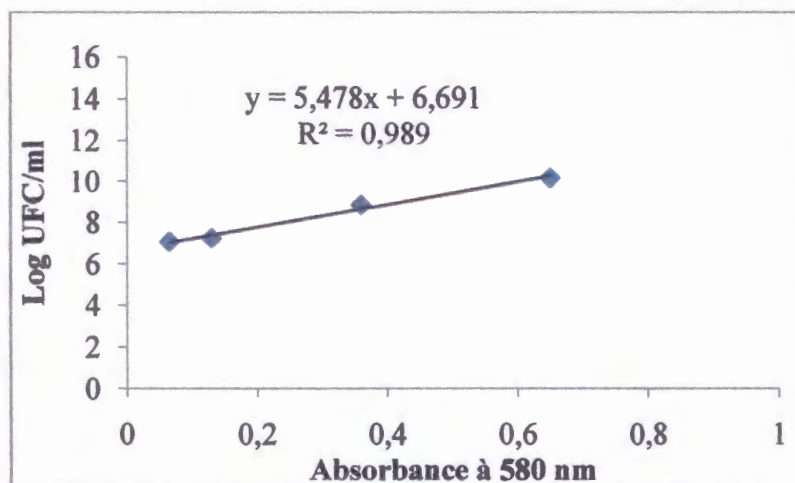


Figure 4 : Courbe d'étalonnage d'*Escherichia coli* 87

#### IV.1.1.2. Courbe d'étalonnage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) (code 019)

La courbe d'étalonnage de log UFC/ml en fonction de l'absorbance est présentée dans la figure 5.

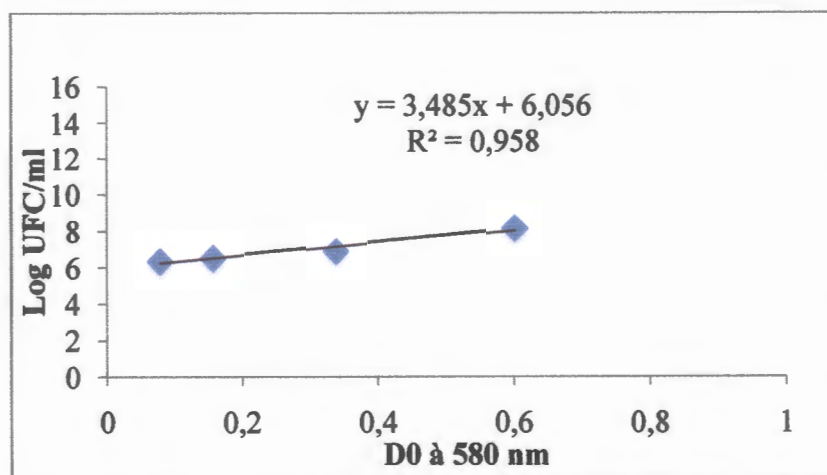


Figure 5: Courbe d'étalonnage de SARM

#### IV.1.2. Courbe de croissance

##### IV.1.2.1. Courbe de croissance d'*Escherichia coli*

La cinétique de croissance d'*Escherichia coli* 87 en milieu liquide est présentée dans la figure 6.

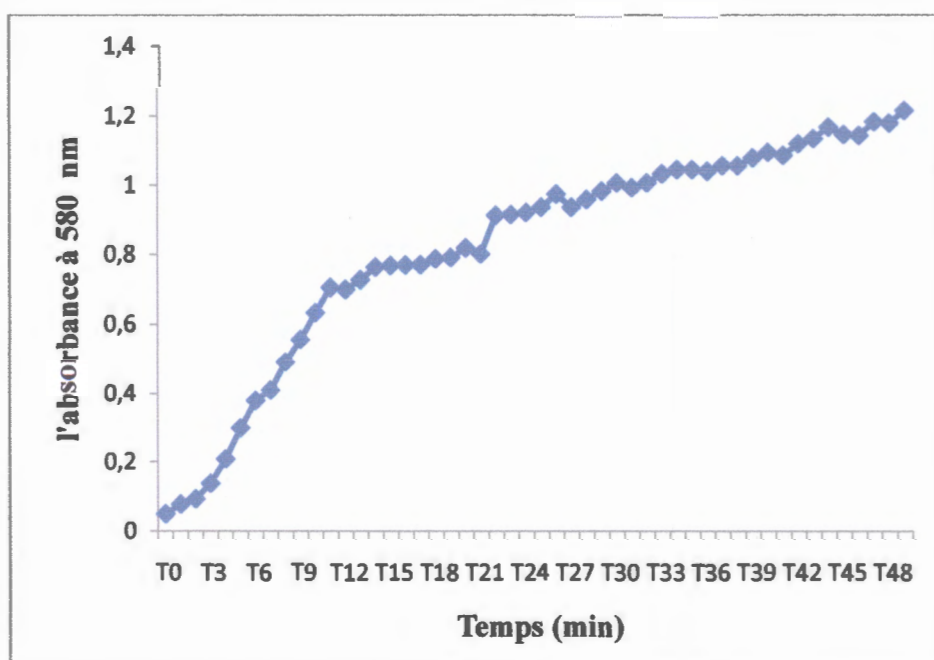


Figure 6: Courbe de croissance d'*Escherichia coli* 87

D'après cette courbe, Il existe 3 phases dont l'ensemble constitue la courbe de la cinétique de croissance.

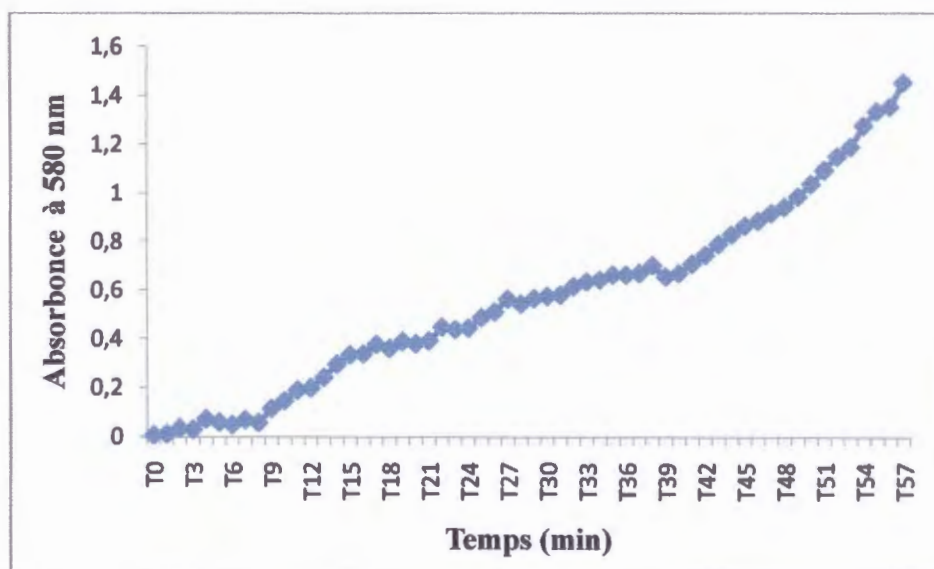
**Phase de latence (T0-T2) :** c'est une phase très courte, le taux de croissance nul ( $\mu = 0$ ). La durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries et de la composition du milieu. C'est le temps nécessaire à *Escherichia coli* pour synthétiser les enzymes pour s'adapter au nouveau substrat.

**Phase d'accélération (T2-T12) :** il se produit une augmentation de la vitesse de croissance.

**Phase exponentielle (T12-T49) :** *Escherichia coli* se multiplie jusqu'à atteindre  $V_{max}$ . Le taux de croissance atteint un maximum ( $\mu = \max$ ). Cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante. La bactérie se multiplie et voit leur nombre doublé à un intervalle de temps régulier (temps de génération = 22 min) (Le temps de doublement des bactéries est le plus court). La masse cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle).

#### IV.1.2.2. Courbe de croissance de SARM

La cinétique de croissance de SARM en milieu liquide est présentée dans la figure 07.



**Figure 7 :** Courbe de croissance de SARM

D'après cette courbe, il existe 3 phases dont l'ensemble constitue la courbe de la cinétique de croissance.

**Phase de latence (T0-T8) :** c'est une phase très courte, le taux de croissance nul ( $\mu = 0$ ). La durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries et de la composition du milieu. C'est le temps nécessaire à *Staphylocoque aureus* pour synthétiser les enzymes pour s'adapter au nouveau substrat.

**Phase d'accélération (T8-T14) :** il se produit une augmentation de la vitesse de croissance.

**Phase exponentielle (T14-T57) :** *Staphylocoque aureus* se multiplie jusqu'à atteindre  $V_{max}$ . Le taux de croissance atteint un maximum ( $\mu = \max$ ). Cette phase dure tant que la vitesse de croissance

est constante. La bactérie se multiplie et voit leur nombre doublé à un intervalle de temps régulier (temps de génération = 30 min) (Le temps de doublement des bactéries est le plus court). La masse cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle).

## IV.2. Activité antibactérienne

### IV.2.1. Antibiogramme de vérification des souches testées

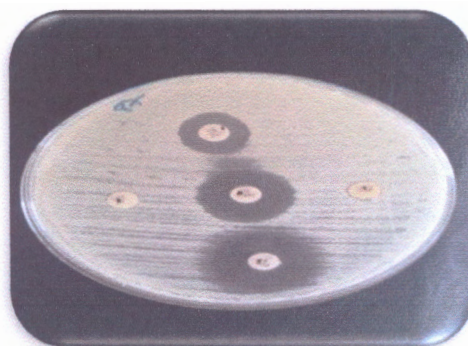
#### IV.2.1.1. Antibiogramme d'*Escherichia coli* 87

Les résultats de l'antibiogramme (DD-test) de la souche d'*Escherichia coli* 87 sont présentés dans le tableau et la figure suivants.

**Tableau II:** Résultats de l'antibiogramme de vérification de la souche d'*E.coli* (Annexe III).

Antibiotiques	Diamètre d'inhibition (mm)	Résistance/Sensible
AMC <sub>30</sub>	20	S
CIP <sub>5</sub>	23	I
CTX <sub>30</sub>	14	R
CAZ <sub>30</sub>	6	R
AT <sub>30</sub>	6	R

S : sensible. R : résistance. I : intermédiaire.



**Figure 8 :** Photos présentant l'antibiogramme de vérification de la souche d'*E.coli* 87.

En présence des antibiotiques (AMC<sub>30</sub>, CIP<sub>05</sub>), nous observons des zones d'inhibition avec des diamètres différents : 20 mm, 23 mm (tableau II) ce qui signifie que la souche est sensible ou bien présente une sensibilité intermédiaire vis-à-vis de ces antibiotiques.

Tandis qu'en présence des antibiotiques (AT<sub>30</sub>, CAZ<sub>30</sub>, CTX<sub>30</sub>) appartenant à la famille des  $\beta$ -lactamines, la souche se montre résistante (tableau II).

D'après l'antibiogramme obtenu, nous notons bien l'apparition d'une image de synergie ce qui indique que la souche est résistante par production de  $\beta$ -lactamases.

Selon **Grall et al.**, (2011) cette résistance est due à la production des enzymes  $\beta$ -lactamases produites par la souche d'*Escherichia coli* 87et qui est responsable de l'hydrolyse des  $\beta$ -lactamines.

#### IV.2.1.2. Antibiogramme de SARM

En présence des antibiotiques (AMC<sub>30</sub>, CIP<sub>05</sub>, CTX<sub>30</sub>), nous observons des zones d'inhibition avec des diamètres de 26 mm, 37 mm, 45 mm respectivement (Annexe III) ce qui explique que cette souche est sensible vis-à-vis à ces derniers.

Pour la FOX<sub>30</sub> la zone obtenue est de 19,5 ce qui confirme que la souche est un SARM (tableau III).

Selon **Carle. (2009)** cette résistance est due à l'altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) aussi connues sous PBP (*Penicillin Binding Protein*)et qui est responsable à la réduction de l'affinité de la cible (PLP) pour les  $\beta$ -lactamines soit par une mutation des gènes chromosomiques, soit par l'acquisition de gènes supplémentaires exprimant de nouvelles PLP.

**Tableau III** : Résultats de l'antibiogramme de vérification de la souche de *Staphylocoque aureus*

Antibiotiques	Diamètre d'inhibition (mm)	Résistance/sensible
AMC 30	26	S
CIP 5	37	S
CTX30	45	S
OX5	19	-
FOX30	19.5	R
CAZ30	6	R
AT30	6	R

S : sensible. R : résistance. - : non déterminé

#### IV.2.2. Aromatogramme sur milieu solide (méthode des disques)

L'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* Desf., *Thymus fontanesii* Boiss et Reut., *Thymus numidicus* Poiret., *Lavandula stoechas* et *Mentha pulegium* sur *Escherichia coli* est évaluée par la méthode des disques.

#### IV.2.2.1. Aromatogramme d' *E.coli* 87

Les diamètres des zones d'inhibition de la souche *E. coli* sont mesurés en mm et présentés dans la figure 9 et (Annexe IV).

Les cinq huiles essentielles non diluées (TYTO, TYS, OG, MP, LS) montrent des zones d'inhibition de 58 mm ; 49 mm ; 35 mm et 17 mm, 12.5 mm respectivement.

Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grande, plus la souche est sensible à la substance testée. Plus il est faible plus la bactérie est résistante. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'H.E sur la souche testée.

Les dilutions 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 de l'huile essentielle de TYS et OG se révèlent toujours actives avec des diamètres des zones d'inhibition supérieures à 15 mm. Pour les huiles essentielles de TYTO y a les dilutions 1/2, 1/4, 1/8 qui sont actives. Cependant, pour l'huile essentielle de MP uniquement l'huile non diluée qui est active.

Selon Rossi et al. (2003), une huile essentielle est considérée comme active contre un microorganisme, si elle produit des diamètres d'inhibition supérieurs ou égaux à 15 mm, de ce fait nous pouvons déduire que la souche d'*Escherichia coli* testée est extrêmement sensible aux huiles essentielles de TYS, TYTO, OG et MP, donc sa croissance est presque totalement inhibée.

En revanche *Escherichia coli* manifeste une résistance relative vis-à-vis l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* (LS), vue que la zone d'inhibition est de 12.5 mm.

Les huiles essentielles étudiées ont fait l'objet de DD-test en remplaçant le disque d'augmentin par ces dernières.

Les résultats obtenus sont négatifs, ce qui explique que ces huiles ne peuvent pas être des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases.

#### II.2.2. Aromatogramme de SARM 019

Les diamètres des zones d'inhibition du SARM sont mesurés en mm et présentés dans la figure 10 et (Annexe IV).

Les cinq huiles essentielles testées (TYTO, TYS, OG, MP, LS) montrent des zones d'inhibition de 66mm ; 42.5mm ; 33mm, 16 mm et 25 mm respectivement. D'après les résultats obtenus nous notons bien que le SARM est sensible à tous les huiles essentielles puisque tous les diamètres sont supérieurs à 15 mm.

Les dilutions 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 de l'huile essentielle de TYTO se révèlent toujours actives avec des diamètres des zones d'inhibition supérieures à 15 mm. Pour les huiles essentielles de TYS et OG y a les dilutions 1/2, 1/4, 1/8 qui sont actives. Cependant, pour l'huile essentielle de MP uniquement 1/2 et 1/4 qui se montre actifs et pour LS uniquement l'huile non diluée qui est active.

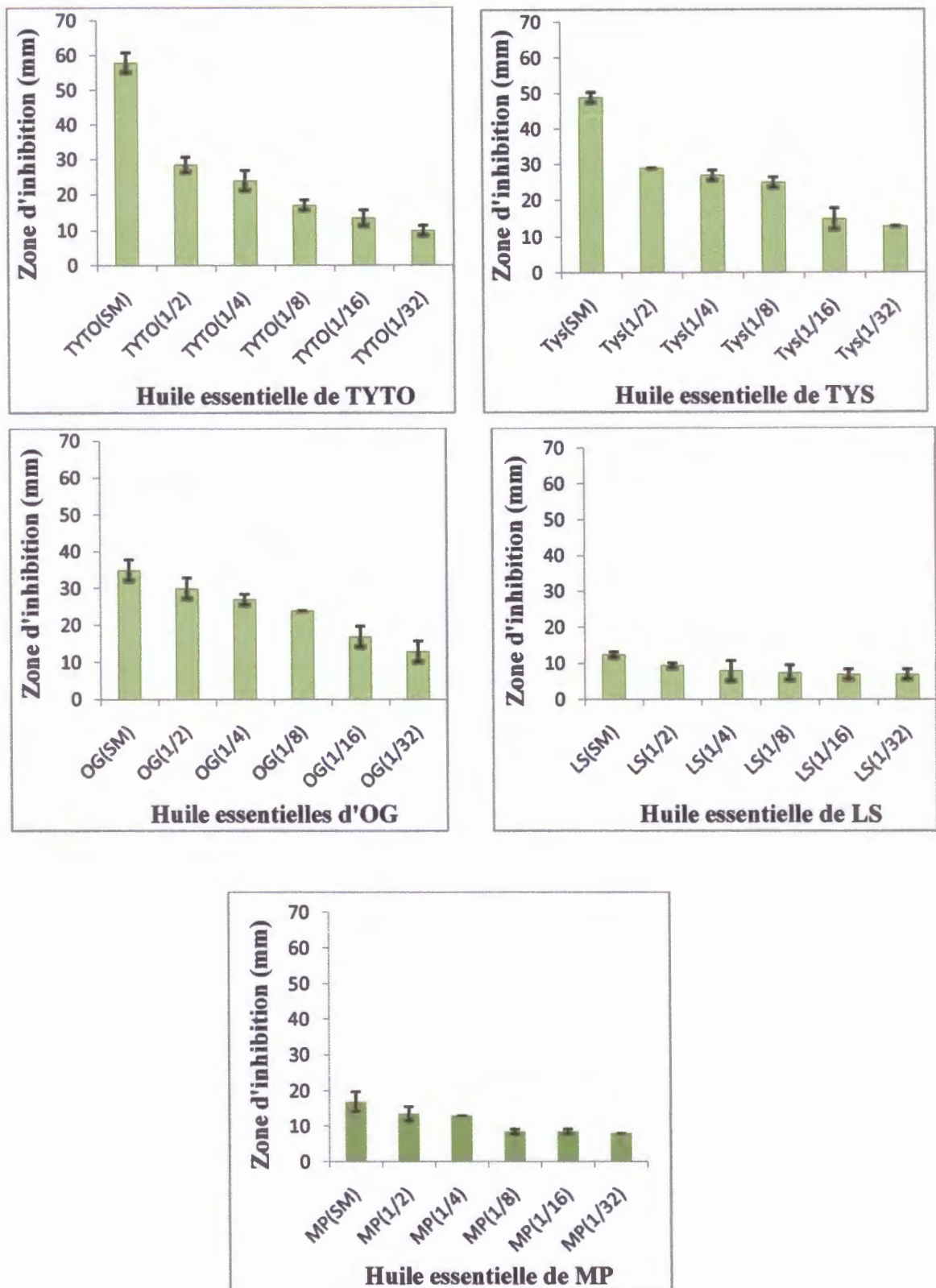


Figure 09 : Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles sur milieu solide de la souche *E. coli*



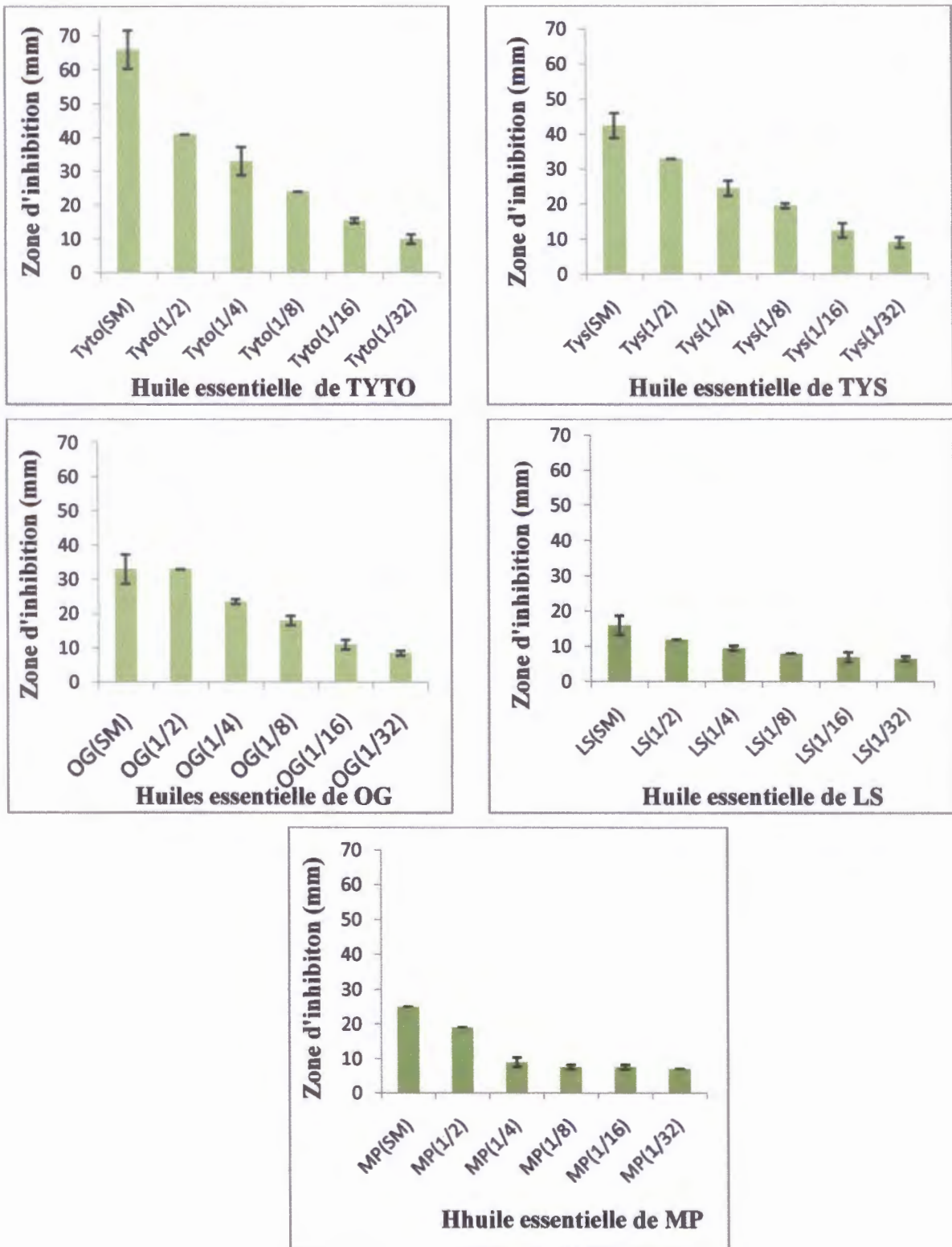


Figure10: Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles sur milieu solide du SARM

Pauli (2001) montre que parmi les HEs les plus étudiées ayant des propriétés antibactériennes y a ceux appartenant à la famille des *Lamiaceae* (origan, thym) et qui sont d'autant de plantes aromatiques à HEs riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol et qui possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons et autres préparation. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et alimentaires.

D'autre part Zhiri (2006) a rapporté que l'efficacité d'une HE dépend de sa richesse en composés photochimiques, plus l'HE est riche en substances actives, plus son activité est importante.

### IV.3. Association huiles essentielles/antibiotiques par la méthode des disques

L'association des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* Desf., *Thymus fontanesii* Boiss et Reut., *Thymus numidicus* Poiret., *Lavandula stoechas* et *Mentha pulegium* avec les antibiotiques sur *Escherichia coli* et *Staphylocoque aureus* est évaluée par la méthode des disques.

#### IV.3.1. Effet de l'association huiles essentielles/antibiotiques sur *Escherichia coli* 87

L'association des cinq HEs avec les ATBs auxquels résiste la souche présentent des effets qui sont statistiquement différents, les diamètres des zones d'inhibition des HEs et de leurs associations sont rapportés dans les figures 11, 12 et (Annexe V).

L'analyse statistique (ANOVA/MANOVA) montre que l'association des cinq HEs avec CTX et la CAZ<sub>30</sub> donne des effets antagonistes ou indifférents avec des degrés de sensibilité différents.

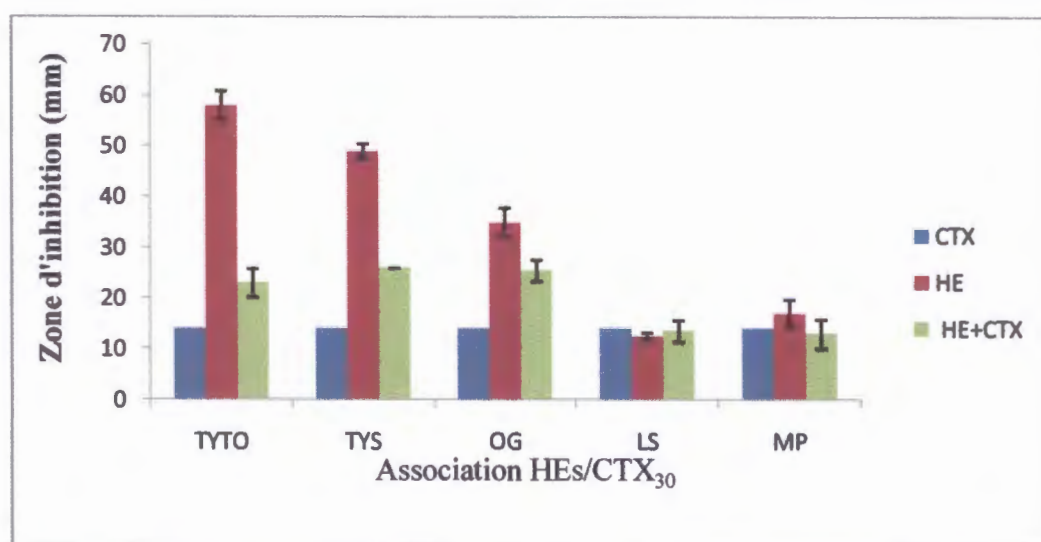


Figure 11 : Résultats de l'association HEs/ CTX<sub>30</sub> sur *E. coli* 87

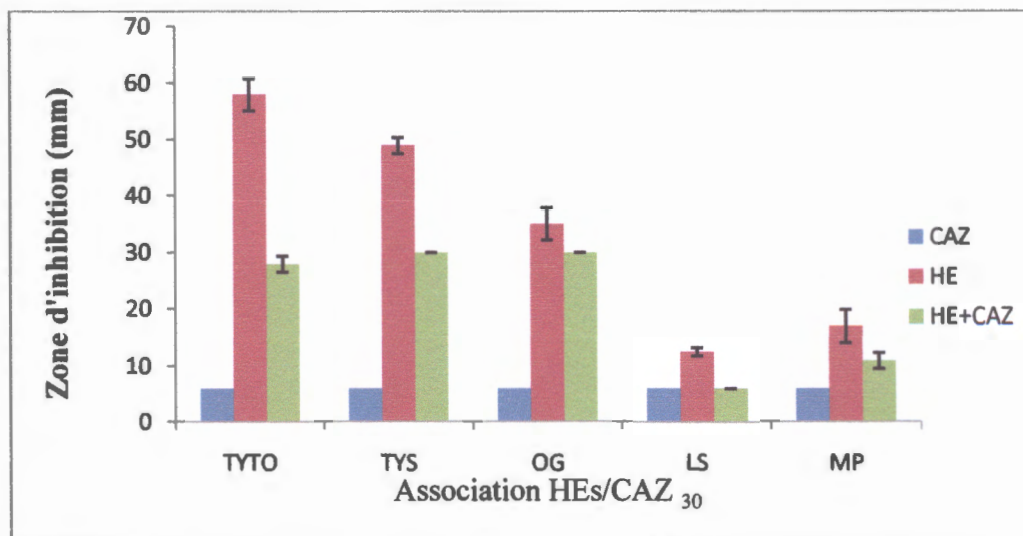


Figure 12 : Résultats de l'association HES/ CAZ<sub>30</sub> sur *E. coli* 87

#### IV.3.1.1. Effet de l'association huiles essentielles de TYTO, TYS, OG, MP /CTX

*Escherichia coli* est moins sensible à l'action des huiles essentielles de TYTO, TYS, OG, LS et associée à CTX ceci se montre par diminution des zones d'inhibitions de  $58 \pm 2.82$  mm ;  $49 \pm 1.41$  ;  $35 \pm 2.82$  mm ;  $12.5 \pm 2.82$  mm et  $17 \pm 2.82$  mm pour les huiles seules respectivement à  $23 \pm 2.82$  mm,  $26 \pm 0$  mm,  $25.5 \pm 2.12$  mm et  $13 \pm 2.82$  mm pour l'association respectivement. Ce qui révèle un effet antagoniste.

#### IV.3.1.2. Effet de l'association huiles essentielles de TYTO, TYS, OG, MP /CAZ

*Escherichia coli* est moins sensible à l'action des huiles essentielles de TYTO, TYS, OG, LS et associée à CAZ ceci se montre par diminution des zones d'inhibitions de  $58 \pm 2.82$  mm ;  $49 \pm 1.41$  ;  $35 \pm 2.82$  mm ;  $12.5 \pm 2.82$  mm et  $17 \pm 2.82$  mm pour les huiles seules respectivement à  $28 \pm 1.41$  mm,  $30 \pm 0$  mm ;  $30 \pm 0$  mm et  $11 \pm 1.41$  mm pour l'association respectivement. Ce qui révèle un effet antagoniste.

#### IV.3.1.3. Effet de l'association huile essentielle de LS /CTX et CAZ

*Escherichia coli* est plus sensible à l'action de l'huile essentielle de LS associée à CTX. Ceci se montre par une légère augmentation de zone d'inhibition de  $12.5 \pm 2.82$  mm pour l'huile seule à  $13.5 \pm 2.12$  mm pour l'association par contre y a aucun zone d'inhibition avec la CAZ ce qui révèle un effet antagoniste.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que la sensibilité d'*E. coli* vis-à-vis les associations HES/ATBs testées, diffère selon l'huile essentielle et l'antibiotique utilisés en

association. Les cinq huiles donnent toute un effet antagoniste en association avec l'antibiotique CAZ et CTX et un seul effet indifférent avec l'association de LS avec CTX.

L'effet synergique des combinaisons HES/ATBs contre les bactéries Gram- à été rapporté par **Durate et al. (2012)**, qui ont montré que l'essence de coriandre exerce une activité synergique contre *A.baumannii*, lorsqu'elle est associée avec des antibiotiques conventionnels (gentamicine, ciprofloxacine et tétracycline).

D'une autre part, **D'Arrigo et al. (2010)** ont montré que l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* exerce une activité synergique contre *E. coli* lorsqu'elle est associée avec la tobramycine.

Une autre étude réalisée par **Halawani (2009)** a montré aussi que l'utilisation de thymoquinone et de thymohydroquinone de *Nigella sativa*, associées à la cephalexine donne des interactions synergiques contre *E. coli* (Gram-), ces même composés ont montré des effets antagonistes et indifférents en association avec d'autres antibiotiques.

La combinaison de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de Turquie avec la cephaloxitine et le ceftriaxone étudiée par **Toroglu (2011)** montré également des effets antagonistes sur *E. coli*.

Les activités variables observées avec les différentes huiles (synergie, antagonisme et indifférence), peuvent êtres expliquer par le mode d'action des composés des HES, les composés des différentes HES ne réagissent pas de la même manière en les combinant avec les antibiotiques testés. **Gallucci et al. (2006)** ont rapporté dans leur étude que l'utilisation des terpènes combinés avec la pénicilline a pu augmenter l'activité de ces dernières contre des souches bactériennes à Gram négatif en leur conférant une meilleure capacité de transport à l'intérieur de sa cible bactérienne. D'une autre part, **Rosato et al. (2010)** ont attribué l'activité synergique entre la gentamicine et les huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* et d'*Aniba rosaeodora* contre les Gram négatif aux alcools terpéniques, qui sont les composants majoritaires de ces deux huiles et qui interagissent avec la membrane cytoplasmique bactérienne ce qui facilite la pénétration de la gentamicine à l'intérieur de la cellule et sa fixation à la sous unité 30 S du ribosome.

#### IV.3.2. Effet de l'association huiles essentielles/antibiotiques sur le SARM

L'association des cinq HES /ATBs présentent des effets qui statistiquement différents, les diamètres des zones d'inhibition des HES et de leurs associations sont rapportés dans la figures 13 et (Annexe V).

L'analyse statistique (ANOVA/MANOVA) montre que l'association des cinq HES avec la FOX donne à la fois des effets synergiques et antagonistes avec des degrés de sensibilité différents.

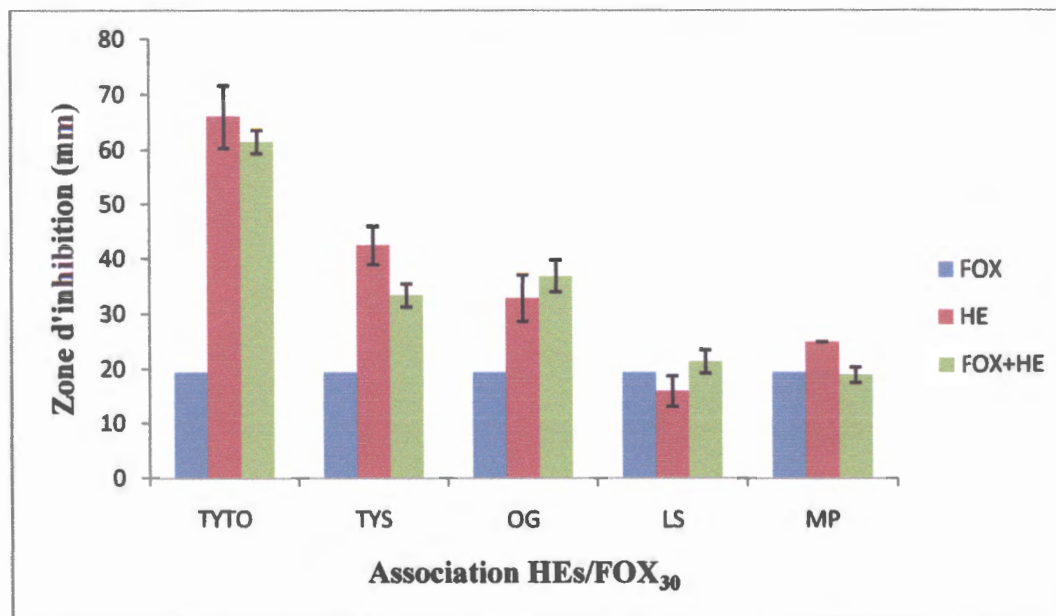


Figure 13 : Résultats de l'association HEs / FOX<sub>30</sub> sur le SARM

#### IV.3.2.1. Effet de l'association des huiles essentielles de TYTO, TYS, MP / FOX<sub>30</sub>

Le SARM moins sensible à l'action des huiles essentielles de TYTO, TYS et MP associées à FOX<sub>30</sub> est ceci se montre par une diminution des zones d'inhibitions de  $66 \pm 5.65$  mm,  $42.5 \pm 3.53$  et  $25 \pm 0$  mm pour l'huile seule à  $61.5 \pm 2.12$  mm,  $33.5 \pm 2.12$  mm et  $19 \pm 1.41$  pour l'association respectivement. Cette diminution de l'effet s'explique par l'effet antagoniste exercé par les deux substances sur le SARM.

#### IV.3.2.2. Effet de l'association OG, LS / FOX<sub>30</sub>

Le SARM est plus sensible à l'action des huiles essentielles d'OG et de LS associées à la FOX<sub>30</sub>. Ceci se montre par une augmentation des zones d'inhibitions de  $33 \pm 4.24$  mm et  $16 \pm 2.82$  mm pour l'huile seule à  $37 \pm 2.82$  mm et  $21.5 \pm 2.12$  mm pour l'association respectivement.

D'après les résultats obtenus, nous notons bien que la sensibilité de SARM vis-à-vis les associations HEs/FOX, diffère selon l'huile essentielle et l'antibiotique utilisés en association. OG et LS donnent des effets synergiques très remarquables.

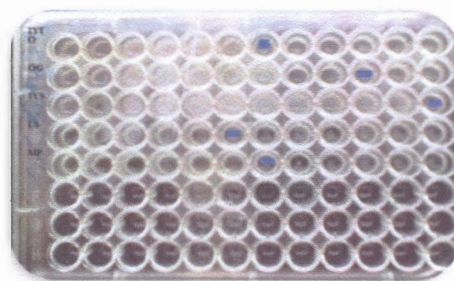
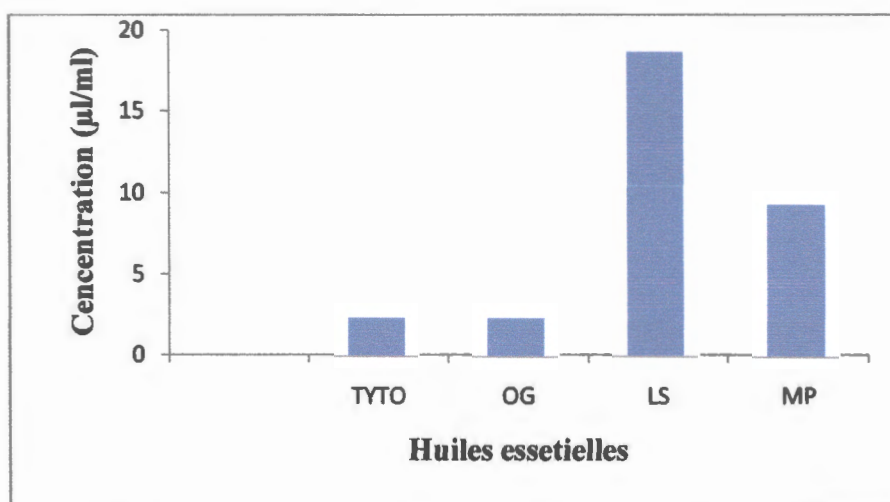
L'effet synergique des combinaisons HEs/ATBs contre les bactéries Gram+ a été rapporté par **Betoni et al. (2006)** qui ont observé des interactions synergiques entre les extraits de quelques plantes médicinales brésiliennes et huit antibiotiques sur *S. aureus*. De même **Darwish et al. (2002)** ont démontré que l'efficacité de la gentamycine et du chloramphénicol contre les *Staphylocoques* dorés a été considérablement améliorée en association avec des extraits de plantes.

Gallucci *et al.* (2006) ont montré également dans leur étude que l'utilisation des terpènes combinés avec la pénicilline à augmenter l'activité de cette dernière contre les staphylocoques résistants à la méticilline, l'interaction entre le carvone et la pénicilline a donné une interaction synergétique très intéressante. Les diterpènes et les triterpènes ont été signalés également à avoir des capacités de modulation de la résistance à divers antibiotiques contre les souches résistantes de *S. aureus* (Aiyegoro et Okoh, 2009).

#### IV.4. Aromatogramme en milieu liquide (méthode de microdilution)

##### IV.4.1. Aromatogramme en milieu liquide d'*Escherichia coli* 87

Les résultats de CMI sur milieu liquide des cinq HEs sur *E. coli* sont représentés dans la figure 14 et (Annexe VI).



**Figure 14 :** Résultats des CMI des HEs sur *E. coli*

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des HEs retenues sont celles obtenues dans les puits de la microplaque avant la première croissance, c-à-d la ou aucune croissance n'est visible à l'œil nu.

Les CMI obtenues pour la souche *E. coli* en présence des huiles (OG, TYTO, LS, MP) sont de 0.58, 2.34, 18.75, 9.37 µl/ml respectivement. Cependant, l'huile essentielle de TYS présente un CMI < 0.3 µl/ml

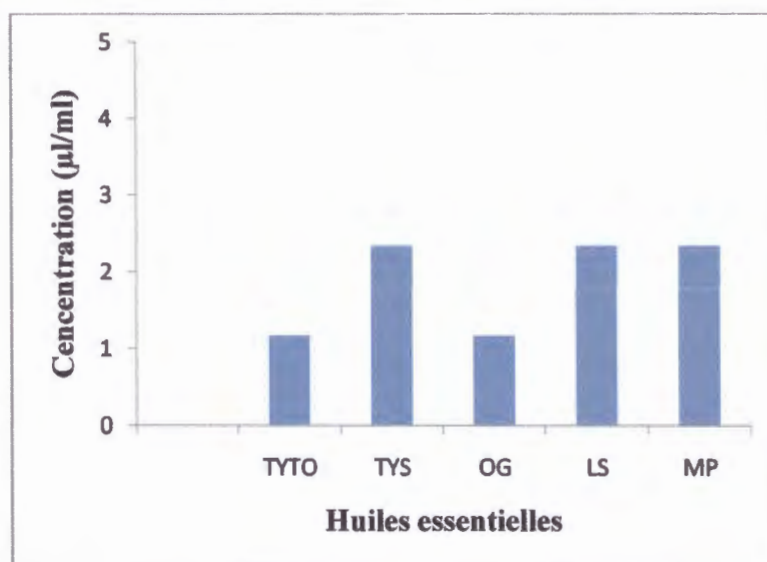
D'après le résultat obtenu nous constatons que la CMI la plus élevée est obtenue avec l'huile de LS la plus faible avec l'huile essentielle de TYS.

#### IV.4.2. Aromatogramme en milieu liquide de SARM

Les résultats de CMI sur milieu liquide des cinq HEs sur le SARM sont représentés dans la figure 15 et (Annexe VI).

Les Concentrations Minimales Inhibitrices de SARM en présence des huiles (OG, TYTO, TYS, LS, MP) sont : 2.34  $\mu\text{l/ml}$ , 2.34  $\mu\text{l/ml}$ , 4.68  $\mu\text{l/ml}$ , 9.37  $\mu\text{l/ml}$ , 9.37  $\mu\text{l/ml}$  respectivement.

Les huiles essentielles de TYTO et OG montrent les CMI les plus faibles (2.34  $\mu\text{l/ml}$ ).



**Figure 15 :** Résultats des CMI des huiles essentielles sur SARM

Les activités antibactériennes observées sont différentes suivant la méthode utilisée (disques ou aromatogramme). Pour les huiles essentielles testées, l'aromatogramme ne confirme pas les résultats obtenus avec la méthode de microdilution sur milieu liquide. L'activité des HEs sur milieu liquide n'est pas proportionnelle à l'activité de ces mêmes huiles essentielles sur milieu solide.

Les différences retrouvées pour ces deux méthodes sont dues au fait qu'un composé volatil donné présent dans l'huile essentielle, responsable de l'inhibition d'un microorganisme par contact direct, ne réagit pas de la même manière en milieu liquide (**Bendjilali et al., 1984**).

Des travaux montrent que les huiles essentielles du genre *Origanum* présentent une activité antibactérienne intéressante. L'huile essentielle d'*Origanum minutiflorum* (Turquie), présente une activité sur les 15 souches testées (**Aslim et Yucel 2007**).

D'autre part, les huiles essentielles d'*Origanum minutiflorum*, *Origanum onites*, *Thymbra spicata* L. *Satureja cuneifolia* Ten. sont très actives, et leurs activités peuvent être attribuées, à la présence très probablement du carvacrol, *p*-cymène et  $\gamma$ -terpinène (**Baydar et al., 2004**). L'activité antimicrobienne élevée des huiles essentielles riche en phénols comme le carvacrol et le thymol est souvent rapportée par plusieurs auteurs (**Laouer et al., 2003 ; Baydar et al., 2004 ; Amarti et al., 2008 ; Bekhechi et al., 2008 ; Bendahou et al., 2008**).

De même, l'activité antimicrobienne élevée de l'huile essentielle d'*Origanum minutiflorum* ainsi que celle des composés majoritaires, carvacrol et *p*-cymène, montrant que le carvacrol est responsable de l'activité antimicrobienne observée (**Vardar-Ünlü et al., 2007**). Ça suggère que l'activité antibactérienne de nos huiles essentielles (TYS, OG, TYTO) peut être attribuée principalement à ses constituants majoritaires : les phénols.

#### **IV.4.3. Effet des huiles essentielles sur la cinétique de croissance de SARM**

Les résultats obtenus dans les figures 16,17 et 18 montrent des variations au niveau de l'absorbance (densité optique DO) en fonction du temps.

Pour la courbe de croissance de SARM on absence de tous huiles nous constatons une augmentation de l'absorbance de 0.08 (6.44 UFC/ml) jusqu'à 1 (9.5 UFC/ml).



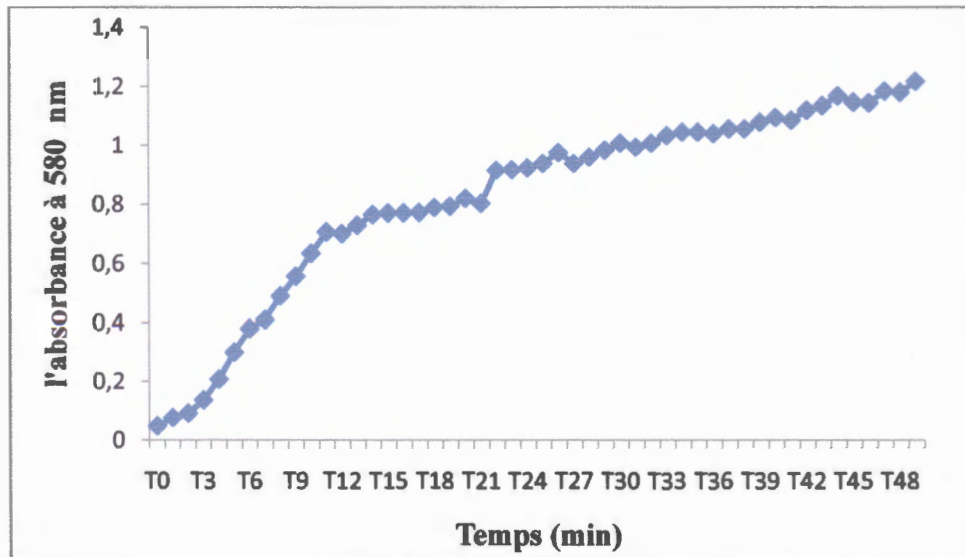


Figure 16 : La courbe de croissance de SARM en absence l'huile essentielle (Témoin +)

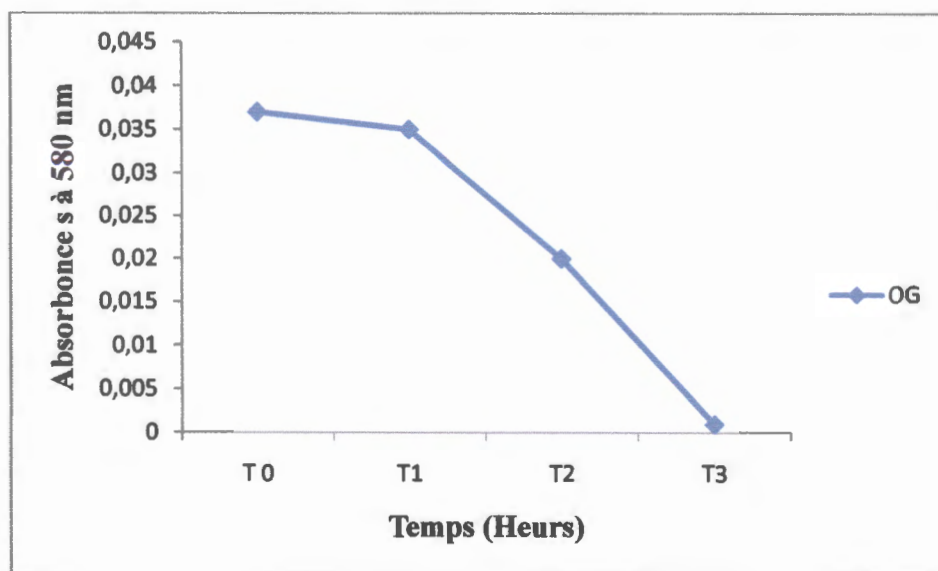
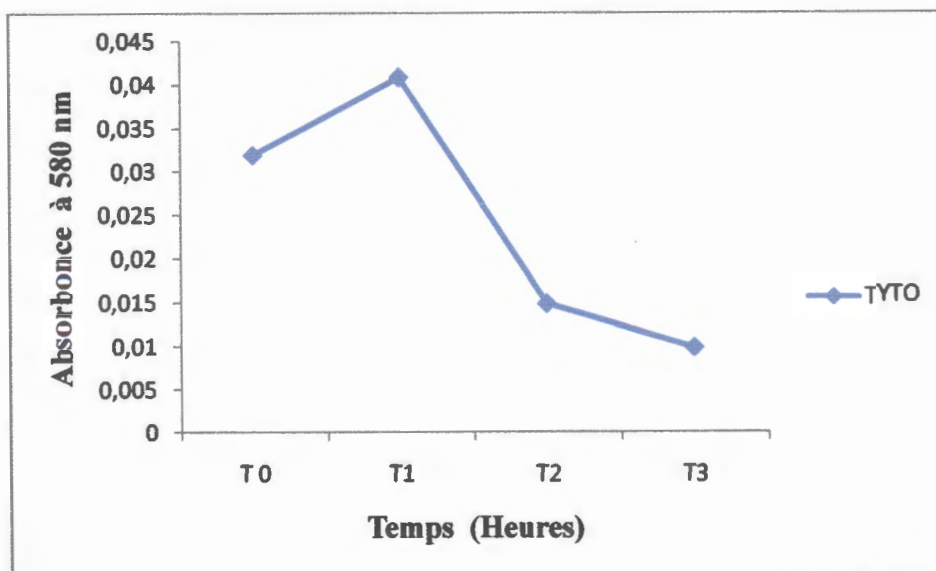


Figure 17: Effet de l'huile essentielle d'OG sur la cinétique de croissance de SARM



**Figure 18** : Effet de l'huile essentielle de TYTO sur la cinétique de croissance de SARM

En présence d'OG le nombre des cellules diminue de 0.037 (6.18 UFC/ml) jusqu'à 0.001 (6.05 UFC/ml) et en présence de TYTO le nombre des cellules augmente de 0.032 (6.16 UFC/ml) à 0.04 (6.19) puis diminue jusqu'à 0.01 (6.096 UFC/ml) pour les CMI.

Ces résultats reflètent à la fois un effet à la fois bactéricide et bactériostatique.

L'effet des substances bioactives sur la cinétique de croissance de *Staphylococcus aureus* dépend de la composition chimique de l'huile essentielle qui sont des phénols : Le thymol le carvacrol et eugénol (Boubricit et al., 2007). Les phénols sont responsables des altérations irréversibles au niveau de la membrane bactérienne. La molécule de thymol a un effet inhibiteur et létal sur la souche *Staphylococcus aureus*, sur laquelle elle provoque des fuites d'ions potassium (K<sup>+</sup>). Plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les HE sont efficaces.

Le thymol, le carvacrol et l'eugénol sont des composants actifs d'HE, rendant perméable la membrane des bactéries ce qui provoque la mort cellulaire. Les HE ont donc bien des propriétés bactéricides.

Une HE active exerce son pouvoir antimicrobien par son interférence avec la bicouche lipidique de la cellule cible grâce à sa propriété hydrophobe, ce qui entraîne une perturbation de la perméabilité et perte des constituants de la cellule. En plus, cette réaction varie en fonction de la nature de la bicouche lipidique, ce qui explique la résistance des bactéries Gram- (Boubricit et al., 2007).

D'après Oussalah et al. (2007), l'action antimicrobienne des HES se déroule en trois phases :

Attaque de la paroi bactérienne par l'HE provoquant ainsi une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaire ;

Acidification de l'intérieur de la cellule en bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;

Destruction du matériel génétique ce qui conduit la mort de la bactérie (**Boubrit et al., 2007**).

*Conclusion*

## Conclusion et perspectives

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de cinq plantes médicinales aromatiques locales de la région de Bejaia qui sont *Origanum glandulosum* Desf (OG), *Thymus fontanesii* Boiss et Reut (TYS), *Thymus numidicus* Poirlet (TYTO), *Lavandula stoechas* (LS) et *Mentha pulegium* L. (LS) sur deux souches bactériennes multirésistantes (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et *Escherichia coli*) et l'effet de leur association avec les antibiotiques.

L'étude de la cinétique de croissance par la méthode spectrophotométrique et la détermination de la courbe d'étalonnage par dénombrement donne un temps de génération qui est d'environ 22 min pour *E. coli* et 30 min pour le SARM.

Les cinq huiles essentielles étudiées ont montré la présence d'activité antibactérienne vis-à-vis les deux souches testées. Les huiles essentielles de TYTO, TYS, OG ont manifesté le plus grand pouvoir antibactérien avec des zones d'inhibition de  $58 \pm 2.82$ ,  $49 \pm 1.41$  et  $35 \pm 2.82$  mm respectivement pour *E. coli* et de  $66 \pm 5.65$ ,  $42.5 \pm 3.53$  et  $33 \pm 4.24$  mm respectivement pour le SARM. Ce qui peut s'expliquer par leur richesse en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol et qui possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous.

Cependant, les huiles essentielles de LS et MP montrent des effets plus au moins important avec des zones d'inhibitions de  $17 \pm 2.82$  et  $12.5 \pm 0.70$  pour *E. coli* et de  $16 \pm 2,82$  et  $25 \pm 0$  mm pour le SARM.

Les résultats de l'association des huiles essentielles étudiées avec les différents antibiotiques ont donné diverses interactions contre *Escherichia coli*, les quatre huiles essentielles (TYTO, TYS, OG, MP) donnent des effets antagonistes en association avec la CAZ et le CTX et un seul effet indifférent en associant l'huile essentielle de LS avec CTX.

Nous n'avons observé l'association de FOX<sub>30</sub> avec LS et OG donne souvent des effets synergiques, alors que son association avec les huiles essentielles de TYTO, TYS et MP donnent des effets antagonistes.

Les activités variables observées avec les différentes huiles (synergie, antagonisme et indifférence), peuvent être expliquées par le mode d'action des composés des HEs, les composés des différentes HEs ne réagissent pas de la même manière en les combinant avec les antibiotiques testés.

En ce qui concerne la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices par la méthode de microdilution en milieu liquide, les deux souches sont inhibées sous l'action des cinq huiles avec des concentrations variant de 0.58 à 18.75  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . et TYS montre une très faible CMI

## Liste des références

## A

Abough-Angone, S., Aworet-Sanseny, R.R.R., Eyle-Mev-Mba, C. (2015). Quelques propriétés d'huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon. *phytothérapie*, 13 :283-287.

Adjidé, C.-C., Biendo, M., Rousseau, F., Hamdad-Daoudi, F., Thomas, D., Laurans, G., Canarelli, B., Obin, O., Hénicque, M., Schmit, J-L et Eb, F. (2006). Escherichia coli producteurs de bêta-lactamases à spectre étendu : de nouvelles menaces nosocomiales. *Pathologie Biologie*. 54 : 510–517.

Aiyegoro, O. A et Oko, A. I. (2009). Use of bioactive plant products in combination with standard antibiotics: Implications in antimicrobial chemotherapy. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(13), 1147-1152.

Akthar, M. S., Degaga, B et Azam, T. (2014). Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Biological Sciences and Pharmaceutical Research*. 2 (1)001-007.

Anastay, M., Lagier, E., Blanc, V et Chardon, H. (2013). Epidémiologie des bêta-lactamines à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries dans un hôpital du sud de la France, 1999-2007. *Pathologie Biologie*. 61:38–43.

Amarti, F., Satrani, B., Aafi, A., Ghanmi, M., Farah, A., Aberchane, M., El Ajjouri, M., El Antry, S et Chaouch, A. (2008). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie*. 6, 342–347.

Aouni, M., Peleni, F., et Soulimani, R. (2013). Etude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie*. 11 :225-236.

Aridogan, B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Ozbasa, D et Mumcu, E. (2002). Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Archives of pharmacal research*, 25(06), 860-864.

Aslim, B et Yucel, N. (2007). In vitro antimicrobial activity of essential oil from endemic *Origanum minutiflorum* on ciprofloxacin-resistant *Campylobacter spp.* *Food Chemistry*, 107, 602–606.

## B

Bakkali, F., Averbeek, S., Averbeck, D et Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils. *Rev. Food and chemical toxicology*, 46: 446-475.

Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., Laglaoui, A. (2012). Effet antibactérien et antibiofilm de trois espèces de *Mentha piperita*. *Phytothérapie*, 1-9.

Bardeau, F. (1976). La médecine aromatiques. *Laffont*. Paris.

Bassolé, I.H.N et Juliani, H.R. (2012). Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. *Molecules*. 17:3989-4006.

- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G., et Karadogan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15, 169–172
- Bekchechi, C et Abdelouahid, E. (2014). Les huiles essentielles. Office des publications universitaires. p :55.
- Bekchechi, C., Atik-Bekkara, A., Abdelouahid, D. E. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*. 6 :153-159.
- Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J-M., Bernardini, A-F., et Costa, J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 106, 132–139.
- Bendjilali, B., Tantaoui-Elaraki, A-G., Ayadi, A., et Ihlal, M. (1984). Method to Study Antimicrobial Effects of Essential Oils: Application to the Antifungal Activity of Six Moroccan Essences. *Journal of Food Protection*, 47 (10), 748-752.
- Beneteaud, E. (2011). Les techniques d'extraction. *Comité Français du parfum*.
- Bennett, P. M. (2008). Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *Br J Pharmacol*, 153 (1), 347-57.
- Bertrand, X., Costa, Y et P. Pina. (2005). Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998–2003. *Médecine et maladies infectieuses* .35 :329–334
- Betoni, J. E. C, Mantovani, R. P., Barbosa, L. N., Di Stasi, L. C et Fernandes, A. J. (2006). Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro*, 101, 387-390.
- Böhöm, K., Barros-Velazquez, J., Cala-Mata, P et Aubourg, S.P. (2014). Chapitre 3: Antibacterial, antiviral and antifungal activity of essential oils: mechanisms and applications. *Antimicrobial compounds*, 51-80.
- Boubrit, S et Boussad, N. (2007). Détermination "in vitro" du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée.
- Bouhdid, S., Abrini, J., Baudoux, D., Manrea, A., Zhiri, A. (2012). Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *J. Pharm. Clin.* 31(3), 141-8.
- Bréchet, C., Hocquet, D et Bertrand, X. (2015). Eaux usées et *Escherichia coli* producteur de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu. *Journal des Anti-infectieux*. 122, 7.
- Bruneton, J. (1999). Terpènes et stéroïdes. In *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales* (pp 461 -769). Paris : Tec & Doc (3<sup>ème</sup> éd).

## C

- Carle, S.(2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important.*Pharmactuel.* 42,6-21.
- Cattoir,V.(2012).Quinolones: de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance.L'antibiogramme et son interprétation phénotypiques.*RevueFrancophone des laboratoires.* 445, 79-85.
- Chaussade, H., Sunder, S., Bernard, L., Coloby, P., Guy, L., Karsenty, G., Bastide, C et Bruyère, F.(2013).Les médicaments antibiotiques en urologie.*Progrès en urologie.*23, 1327-1341.
- Cornut, P-L et Chiquet, C.(2008).Injections intravitréennes d'antibiotiques et endophtalmies. *J. Fr.Oph -talmol .*31(8), 815-823.
- Couic-Marinier, F et Lobstein, A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques.* N° 525,p 1.
- Courvalin, P. (2007).La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons mécanisme biochimiques et génétiques. Communication présenté le 4-10-2007.
- CLSI.Clinical and Laboratory Standards Institute.(2014).Institute antimicrobial susceptibility testing standards.34:1.228.

## D

- D'Arrigo, M., Ginestra, G., Mandalari, G., Furneri, P.M et Bisignano, G. (2011). Synergism and post antibiotic effect of tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (teatree) oil against *Staphylococcus aureus*and *Escherichia coli*. *Phytomedicine.*17,317-322.
- Darwish, R. M., Aburjai, T., Al-Khalil, S., Mahafzah, A. (2002). Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Staphylococcus aureus*,*J Ethnopharmacol.* 79, 359-364.
- Doit, C. (2015).Bactéries hautement résistance émergentes en pédiatrie.*Reanimation.*24,749-754.
- Doléans-Jordheim, A., Michalet, S., Bergeron, E., Boisset, S., Souard, F.,Dumontet, C.,Dijoux-Franca, M-G et Freney, J.(2008).Les phénomènes de résistance aux antibiotiques liés aux pompes à efflux : exemple de *Staphylococcus aureus*.*Ann Biol Clin,* 66 (5) 499-508.
- Durate, A., Silva, F., Ferriera, S et Domingues, F.C. (2012). Synergistic activity of coriander oil and conventional antibiotics against *Acinetobacterbaumannii*. *Phytomedecine.*19, 236-8.

## E

- Elhani, D. (2012).Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. *Ann Biol Clin.*70 (2), 117-40.

## F



Fouquet, M., Morange, V et Bruyère, F. (2012).Évolution sur cinq ans des infections à germes produisant une b-lactamase à spectre étendu.*Progrès en urologie*.22, 17-21.

Forestier, E., Rémy, V., Mohseni-Zadeh, M., Lesens, O., Jauhlac, B ,Christmann et D.,Hansmann, Y.(2007).Bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : aspects épidémiologiqueet thérapeutiques récents. *La Revue de médecine interne*.28, 746–755.

## G

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A., et Rasooli, I. (2006). Chemical and biological characteristics of *Cuminumcyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*.102, 898-904.

Gallucci, N., Casero,C., Oliva, M., Zygadlo, J et Demo, M. (2006). Interaction between terpenes and penicillin on bacterial strains resistant to beta-lactam antibiotics .*MolecularMedicinalChemistry* .10, 30-32.

Giordani, R et Kaloustian, T.(2006).Action anticandidositique des huiles essentielles :leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques.*Phytothérapie*. 03 :121-124.

Goetz, P et Ghedira, K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194.

Grall, N., Andremont , A et Armand-Lefèvre, L . (2011).Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse.*Journal des anti-infectieux*. 13 (2) :87-102.

Guignard, J-L. (2000). Biochimie végétale (pp. 274). Paris : Dunod (2<sup>ème</sup> éd).

## H

Hajlaoui,H.,Trabelsi,N.,Noumi,E.,Snoussi, M.,Fallah, H.,Ksouri, R et Bakhrouf, A.(2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine.*World J MicrobiolBiotechnol*. 25:2227-2238.

Halawani, E. (2009). Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and Their Interaction with Some Antibiotics.*Advan. Biol. Res*, 3 (5-6), 148-152.

Hamze, M., Dabboussi ,F., Daher, W et Izard ,D. (2003).Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* au Nord du Liban : place de la résistance à la méticillineet comparaison des méthodes de détection .*Pathologie Biologie* .51 :21-26.

Hemaiswarya, S., Kruthiventib, A.K.,Doble, M.(2008).Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine* .15: 639–652.

## J

Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., et Stevens, P. (2002). Les arguments taxonomiques : caractères structuraux et biochimiques. In *Botanique systematique: une perspective phelogenetique* (pp 45-88). Paris : De Boeck.

Julsing, M.K., Koulman, A., Woerdenbag, H.J., Quax, W.J., et Kayser. O. (2006). Combinatorial biosynthesis of medicinal plant secondary metabolites. *Biomolecular Engineering*, 23, 265–279.

### K

Kempf, M., Eveillard, M., Kowalczyk, F., Rossines, E., Panhelleux, G et Joly-Guillou, M.L.(2011). Etude de la sensibilité de 224 bactéries isolées d'infections hospitalières vis-à-vis des composés JCA 250 et JCA 251 à base d'huiles essentielles issus de la recherche. *Aroma Technologies Pathologie Biologie*.59, 39–43.

Kintzios, S.E. (2002). *Oregano: The genera Origanum and Lippia*(pp. 267). London and New York: Taylor & Francis.

Kipnis, E., Dessen, R., Faure, K et Guery, B.(2012). Les thérapeutiques anti-infectieuses non antibiotiques. *Réanimation* .21 :303-316.

### L

Labetoulle, M., Chiquet, C.(2008). Les fluoroquinolones en ophtalmologie : modes d'actions et mécanismes de résistance. *J.Fr. Ophtalmol*.31(8) : 795-801.

Liao, Z-H., Chen, M., Gong, Y-F, Miao, Z-Q., Sun, X-F., et Tang, K-X. (2006). Isoprenoid Biosynthesis in Plants: Pathways, Genes, Regulation and Metabolic Engineering. *Journal of Biological Sciences*, 6 (1), 209-219.

Lamendin, H., Toscano, G., et Requirand., P. (2004). Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. *EMC-Dentisterie*. 1 : 1179–192.

Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., et Carde, J.-P. (1994). Biogenèse des monoterpènes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 133 : 79-99.

Lardry, J.M., et Haberkorn, V. (2007). Les huiles essentielles principes d'utilisation. *Kinesither rev*.61 :18-23.

Lardry, J.M., et Haberkorn, V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither rev*. 61:14-7.

Laouer, H., Boulaacheb, N., Akkal, S., Singh, G., Marimuthu, P., Heluani, C., Catalan, C et Baldovini, N.(2008). Composition and Antibacterial Activity of The Essential Oil of *Ammoidesatlantica*(Coss. et Dur.) Wolf. *Journal of Essential Oil Research*. 3, 266-269.

Legeaya, C., Hilliquin, D., Brunetb, M et Zahara, J.R.(2016). Les bêta-lactamases à spectre élargi, quel est le risque en oncopédiatrie. *Revue d'oncologie hématologie pédiatrique*.4 : 25-34.

Legrand, G.(1978). Manuel préparatoire en pharmacie. 8<sup>ème</sup> édition. Ed Masson. Paris.

Lemberg.(1982).*Armoise.Artemisia herba alba.Parfume and flavor.7.*

Lozniewski.A.,Rabaud.C et Nancy .(2010).Résistance bactérienne aux antibiotiques .

## M

Mahboubi, M et Bidgoli, F. G. (2010). Antistaphylococcal activity of *Zataria multiflora* essential oil and its synergy with vancomycin. *Phytomedicine*. 17, 548–550.

Mandal, S., Deb Mandal, M, Pal, N.K et Saha, K. (2010). Synergistic anti *Staphylococcus aureus* activity of amoxicillin in combination with *Emblica officinalis* and *Nymphaeodorata* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*: volume, 711-714.

Marcel, J.P. (2005).L'antibiogramme et son impact médical. *Antibiotiques.7*: 53-58.

Martinez, J.L.(2009) .The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proc .Biol .Sci.*276:2521-30.

Mathlouthi, N.,Bouzaïenne, T., Oueslati, I., Recoquillay, F., Hamdi, M et Bergaoui, R.(2009). Effet de deux préparations d'huiles essentielles sur la croissance des bactéries in vitro et les performances du poulet de chair.*Huitièmes Journées de la Recherche Avicole*,St Malo.

Mazari, K., Bendimerad, N., Bekhechi, C et Fernandez, X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(10), 959-964, 18.

Merens, A et Servonnet, A. (2010).Mécanismes et épidémiologies de la résistance aux fluoroquinolones en 2010.La résistance aux anti-infectieuse.*Revue Francophone des laboratoires*. 422:33-41.

Merfort, I. (2002). Review of the analytical techniques for sesquiterpenes and sesquiterpene lactones. *Journal of Chromatography A*, 967, 115–130.

Milenković, M.T.,Božić ,D. D , Slavkowska, V. Net Lakušić,B. S.(2015). Synergistic Effects of *Salvia officinalis* L. Essential Oils and Antibiotics against Méthicilline-resistant *Staphylococcus aureus*. *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade.67 (3):949-956.

Moroburonzo, A. (2008).Grande guide des huiles essentielles santé beauté bien-être.*Hachette pratique*. pp : 244.

Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J et Wink, M. (2010). Synergistic properties of the terpenoidsaromadendrene and 1, 8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*.17, 1061–1066.

Muylaert, A et Mainil, J.G. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.*156 :109- 123.

## N

Nascimento, G.G.F; Locatelli, J; Freitas, P. C; Silva, G. L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemical on antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*. 31:247-256.

Ndoutamia, G., Yandai, F. H et Nadlaou, B. (2015). Antimicrobial resistance in extended spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from human urinary tract infections in Ndjamena, Chad. *African Journal of Microbiology Research*. 9(11):776-780.

### O

Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier and M. Lacroix, 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18: 414-420.

Oussou, K., Yolou, S, Tue, B., Kanko, Bi. C., Boti, J, Ahibo, C et Casanova, J. (2010). Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimum Gratissimum* (Lamiaceae). *Euro Journals Publishing, Inc.* Pp 51.

### P

Pauli, A. (2006). Anticandidal Low Molecular Compounds from Higher Plants with Special Reference to Compounds from Essential Oils. *Medicinal Research Reviews*, 26 (2), 223-268.

Pavlović, I., Petrović, S., Radenković, M., Milenković, M., Couladis, M., Branković, S., Drobac, P.M et Niketić, M. (2012). Composition, antimicrobial, antiradical and spasmolytic activity of *Ferula heuffelii* Griseb. ex Heuffel (*Apiaceae*) essential oil. *Food Chemistry*. 130 :310–315.

Philippon A. (2008). Résistance bactérienne: définition, mécanisme, évolution. EMC. (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladie infectieuse.

### R

Rahal, K. (2013). Les antibiotiques. L'office de publications universitaire. Edition N5453. Alger. pp 168

Rasooli, I et Mirmostafa, S.A. (2003). Bacterial Susceptibility to and Chemical Composition of Essential Oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *J. Agric. Food Chem.* 51(8): 2200-2205.

Reverchon, E., De Marco, I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *J. of Supercritical Fluids*, 38, 146–166.

Reyes-Jurado, F., Franco-vega, A., Ramirez-Gorona, N., Palou, E; Lopez Malo, A. (2015). Essential oils: Antimicrobial activities, extraction methods and their modeling. *Food Eng. rev.* 7:275-297.

Rosato, A., Piarulli, M., Corbo, F., Muraglia, M., Carone, A., Vitali, M.E et Vitali, C. (2010). In Vitro Synergistic Action of Certain Combinations of Gentamicin and Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. 17: 3289-3295.

Ruppé, E. (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*. 12 : 3-16.

## S

Santoro, G.F., das Graças Cardoso, M., Guimarães, L.G. L., Salgado, A. P.S. P., Menna-Barreto R, F.S., Soares, M. J. (2007). Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol Res.* 100:783–790.

Schelz, Z., Molnar, J et Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and antiplasmodial activities of essential oils. *Fitoterapia.* 77:279-285

Silva, N.C.C et Fernandes Jr, A. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases.* 16 (3): 402-413.

Singh, S.B., Barrett, J.F. (2006). Empirical antibacterial drug discovery-Foundation in natural products. *Biochemical pharmacology.* 71 :1006 – 1015.

Soualeh, N et Soulimani, R. (2016). Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie.* 14 :44-57.

Sytar, O., Bruckova, K., Hunkova, E., Zivcak, M., Konate, K et Brestic, M. (2015). The application of multiplex fluorimetric sensor for the analysis of flavonoids content in the medicinal herbs family Asteraceae, Lamiaceae, Rosaceae. *Biological Research.* 48:5.

## T

Toroglu, S. (2011). *In-vitro* antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. *Journal of Environmental Biology.* 32(1), 23-29.

## V

Vardar-Ünlü, G., Candan, F., Kmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, Dönmez, E et Tepe, B. (2003). Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Methanol Extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. *Thymus pectinatus* (Lamiaceae). *J. Agric. Food Chem.* 51 (1), 63-67.

## W

Wang, J., James, D., Mac Weil et Jack, F. Kay. (2012). Chemical analysis of antibiotic residues in food. First édition. *Vol.* 366.

## Y

Yala, D., Merad, A.S., Mohamedi, D et Ouarkorich, M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine de Maghreb.* 91.

## Z

Zafar, A., Shaukat, S., Mahnaaz,Kh., Arshiya, T et Zahoor, A.( 2010).Synergistic Effect of *Salvadorapersica* Extracts, Tetracycline and Penicillin Against *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Basic & Applied Sciences*. 2 (1-2), 25-29.

Zhiri, A. (2006). Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré, *aromathérapie* Edit par la fondation pour le libre choix : 9-12.

# *Annexe*

## Annexe I

## Monographie des plantes

❖ *Origanum glandulosum* Desf.✓ Classification botanique

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédonae

Sous classe : Astéridae

Ordre : Lamiales

Famille : *Lamiaceae*Genre : *Origanum*Espèce : *Origanum glandulosum* Desf.

La Photo d'*Origanum glandulosum*  
Desf.

(Quezel et Santa, 1963 ; Gaussen et *al.*, 1982)

✓ Description de la plante

*Origanum glandulosum* Desf. synonyme *Origanum vulgare* ssp *glandulosum*, est une plante spontanée endémique se développant en Afrique du Nord (l'Algérie et la Tunisie) (Bendahou et *al.*, 2008).

C'est une plante à tiges toutes dressées, l'inflorescence est en épis dense, à fleur restant contigües après la floraison. La corolle a une lèvre inférieure plus longue que la lèvre supérieure (Quezel et Santa, 1963).

✓ Habitat et aire de distribution

Broussailles, garrigues. Plante commune dans tout le Tell (Quezel et Santa, 1963).

✓ Propriétés et usage

La plante présente plusieurs propriétés dont l'action sédative, apéritive, antispasmodique, expectorante et antiseptique. L'origan est recommandé en cas de manque d'appétit, d'aérophagie de bronchite chronique, action antalgique. Les espèces d'*origanum* sont très connues comme herbe culinaire (Dallile, 2007; Bendahou et *al.*, 2008).



❖ *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut.

✓ Classification botanique

**Règne** : Végétal

**Embranchement** : Spermaphytes

**Sous embranchement** : Angiospermes

**Classe** : Dicotylédonae

**Sous classe** : Astériidae

**Ordre** : Lamiales

**Famille** : *Lamiaceae*

**Genre** : *Thymus*

**Espèce** : *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut.



La Photo de *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut.

(Quezel et Santa, 1963 ; Gausсен et al., 1982).

✓ Description de la plante

Plante spontanée à tiges dressées robustes. Elle présente des inflorescences plus au moins interrompues vers le bas. Ces fleurs sont blanches à peine plus longue que le calice (Quezel et Santa, 1963).

✓ Habitat et aire de distribution

Commune dans les pelouses et les garrigues. On la retrouve dans le Tell (Quezel et Santa, 1963).

✓ Propriétés et usage

La plante entière est très utilisée en médecine traditionnelle comme antispasmodique, carminatif, antitussif, antiseptique. Ses huiles essentielles sont utilisées en particulier comme antiseptique (Ghannadi et al., 2004 ; Haddouchi et al., 2009).

❖ *Thymus numidicus* Poiret.✓ Classification botanique

**Règne** : Végétal

**Embranchement** : Spermaphytes

**Sous embranchement** : Angiospermes

**Classe** : Dicotylédonae

**Sous classe** : Astéridae

**Ordre** : Lamiales

**Famille** : *Lamiaceae*

**Genre** : *Thymus*

**Espèce** : *Thymus numidicus* Poiret.



La Photo de *Thymus numidicus* Poiret.

(Quezel et Santa, 1963 ; Gaussen et al., 1982).

✓ Description de la plante

*Thymus numidicus* Poiret. est une plante endémique, buissonnante avec des tiges érigées. Ses feuilles sont en général lancéolées, feuilles florales nettement plus larges. Les fleurs sont roses et sessiles (Quezel et Santa, 1963 ; Kabouche et al., 2005).

✓ Habitat et aire de distribution

Plante retrouvée au Nord de l'Algérie et de la Tunisie (Quezel et Santa, 1963; Kabouche et al., 2005).

✓ Propriétés et usage

Plante possède des actions antispasmodiques, expectorantes et antiseptiques ainsi que des propriétés vermifuges. Très utilisée en cas de toux ou d'irritation de la gorge (Kabouche et al., 2005).

❖ *Lavendula stoechas* L✓ Classification botanique**Règne:** Plantes**Sous règne:** Plantes vasculaires**Embranchement:** Spermaphytes**Sous Embranchement:** Angiospermes**Classe :** Dicotyledones**Sous classe:** Dialypétales**Ordre :** Lamiales (labiales)**Famille :** *Lamiaceae***Genre :** *Lavandula***Espèce:** *Lavendula stoechas* L.La Photo de *Lavendula stoechas* L(Quezel et Santa, 1963 ; Gausсен et *al.*, 1982 )✓ Description de la plante

Sous-arbrisseau à tige et feuilles persistantes, il peut atteindre une longueur de 1 mètre, étroit vert pâle, s'étend du gris bleuâtre profond au vert à brun pâle, fleurs de couleur bleu – violet. D'autres variétés sont à fleurs blanches et roses. *L. stoechas* est une plante tendre, qui préfère les endroits ensoleillés et les sols riches, les tiges étroites sont quadrangulaires à feuilles opposées, à son extrémité une inflorescence terminée par un toupet de longues bractées violettes (Mohammedi et Atik, 2012).

✓ Habitat et aire de distribution

Largement distribuée dans les îles canari, Islande et à travers tout le tell méditerranéen, l'Afrique du Nord, Sud ouest de l'Asie, Afrique tropicale avec une disjonction vers l'Inde (Mohammedi et Atik, 2011).

✓ Utilisation thérapeutique

La Lavande a une longue histoire en usage médicinal, elle est employée comme expectorant, antispasmodique, carminative, désinfection des plaies, contre les problèmes dermiques, psoriasis. Elle possède également des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide (Mohammedi et Atik, 2011).

❖ *Mentha pulegium L.*

✓ Classification botanique

**Règne :** Plantae

**Sous règne:** Plantes vasculaires

**Embranchement:** Spermaphytes

**Sous Embranchement:** *Magnoliophyta*

**Classe :** Magnoliopsida

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** *Lamiaceae*

**Genre :** *Mentha*

**Espèce:** *Mentha pulegium L.*



La photo de *Mentha pulegium L*

(Quezel et Santa, 1963 ; Gaussen et al., 1982 )

✓ Description de la plante

Plante vivace à feuilles, opposées, petites, sont ovales presque entières (légèrement dentelées) et munies d'un court pétiole. Les fleurs, qui apparaissent à l'été, de juillet à fin septembre, sont rose lilas, parfois blanches échelonnées le long de la tige (Gamisans et Jeanmonod, 1993).

✓ Habitat et aire de distribution

Elle pousse dans l'ensemble du bassin méditerranéen, la majorité de l'Europe et certaines régions d'Asie (Beghidja *et al.*, 2007).

✓ Utilisation thérapeutique

Elle possède des effets analgésique, antibactérien et antifongique dus à son huile essentielle (Lahlou *et al.*, 2005). *M. pulegium* est aussi utilisée en médecine traditionnelle comme antiseptique pulmonaire et pour traiter les affections gastriques (Hmamouchi, 2001).

**Annex II** : composition des milieux de culture (pour 1 litre d'eau distillée)

**1. Mueller –Hinton (M H), HIMEDIA**

Constituant g/l	Ingrédients g/l
Infusion de viande de bœuf	300.00
Hydrolysat acide de caséine	17.50
Amidon	1.50
agar	17.00
ph	7.6

**Préparation**

Dissoudre 38.00 g de poudre Meuler-Hinton dans un litre d'eau distillée. Autoclavage à 120°C pendant 20 min.

## 2. Bouillon Mueller Hinton, FLUKA

Constituant g/l	Ingrédients g/l
Peptone acide caséine	17.50
Infusion de viande de bœuf	2.00
amidon	1.50
Ph	7.6

### Préparation

Dissoudre 21 g de milieu dans un litre d'eau distillée, additionner tween 80, autoclavage à 120°C pendant 20min.

## 3. Diluant (Eau physiologique stérile)

Chlorure de sodium	9 g
Eau distillée	1L
pH 7, 3 ± 0, 2	

Autoclavage à 120°C pendant 20 min.

## 4. Les composants du bouillon et de gélose nutritive

Constituant g/l	Milieu de culture	
	Bouillon nutritif	gélose nutritif
Extrait de viande	3	9
Peptone tryptique	5	5
Chlorure de sodium	5	5
Agar-agar	-	15

**Annexe III**

Marque, concentration, diamètre critique et lecture interprétative des antibiotiques utilisés (CLSI, 2010)

Agent antimicrobienne	Charge de disque ( $\mu\text{g}$ )	Diamètres critiques (mm)		
		S	I	R
CTX	30	$\geq 26$	23-25	$\leq 22$
CAZ	30	$\geq 21$	18-20	$\leq 17$
AMC	30	$\geq 18$	14-17	$\leq 13$
CIP	5	$\geq 31$	21-30	$\leq 20$
AT	-	$\geq 21$	18-20	$\leq 17$
FOX	30	$\geq 22$	-	$\leq 21$
OX	-	-	-	-

- / Non déterminé

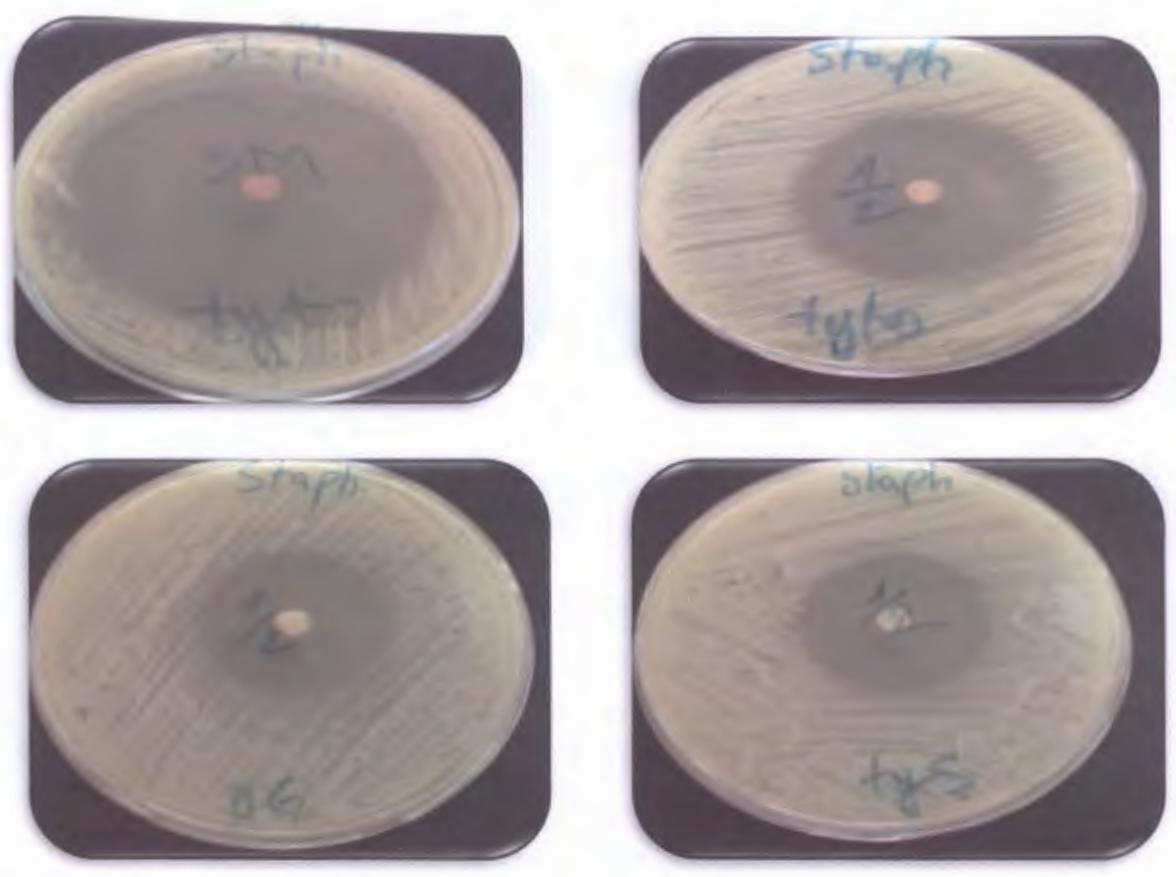
**Annexe IV. Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles sur milieu solide.**

*Escherichia coli* 87



Photos des résultats de l'activité antimicrobienne des HEs sur E.coli

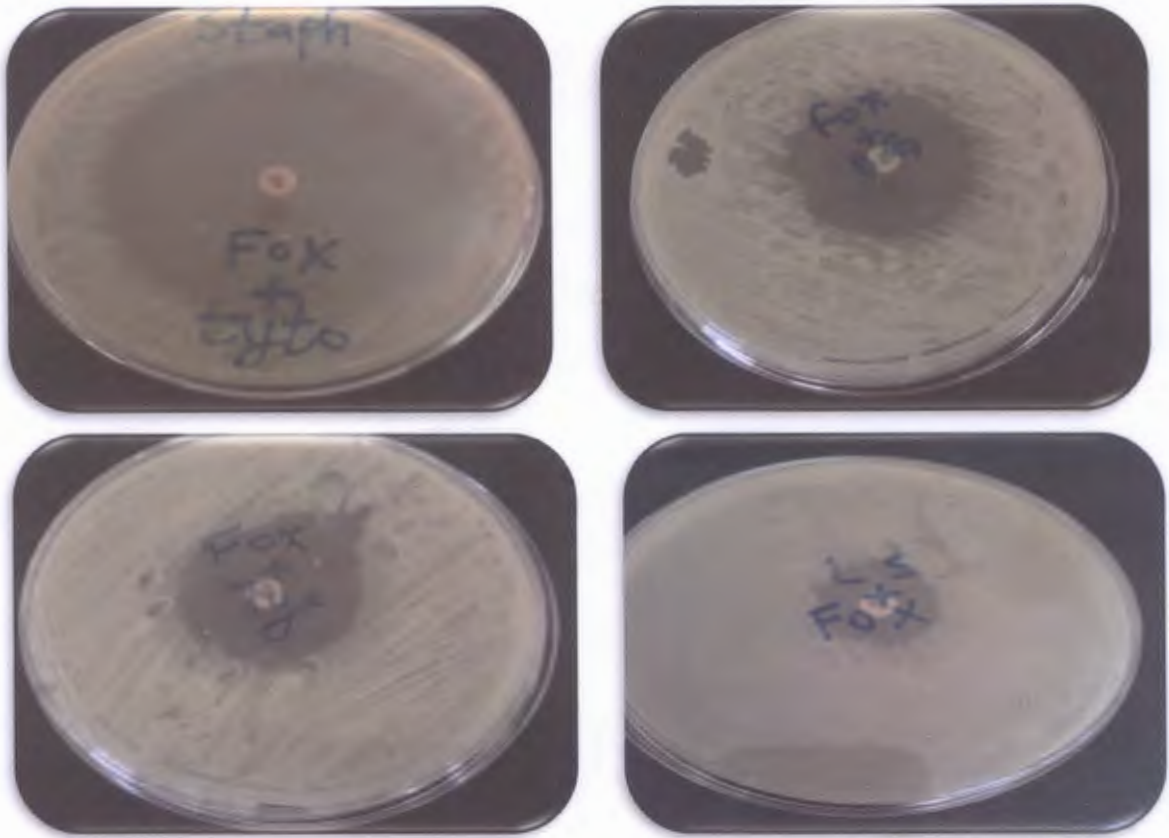
SARM



Photos des résultats de l'activité antimicrobienne des HEs sur SARM



SARM



Photos des Résultats de l'association des HEs/ABTs sur SARM

**Annexe VI : Résultats des CMI des HHs en milieu liquide*****Escherichia coli* 87**

	Concentration des huiles essentielles µl/ml											
	300	150	75	37.5	18.75	9.37	4.68	2.34	1.17	0.58	0.3	témoin
<b>TYTO</b>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<b>TYS</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<b>OG</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<b>LS</b>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<b>MP</b>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

**SARM**

	Concentration des huiles essentielles µl/ml											
	300	150	75	37.5	18.75	9.37	4.68	2.34	1.17	0.58	0.3	témoin
<b>TYTO</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<b>TYS</b>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<b>OG</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<b>LS</b>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
<b>MP</b>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

**Présenté par :**

M<sup>me</sup> BOUANK Hanane  
M<sup>lle</sup> KEROUZ Moufida

**Membre de jury :**

Présidente : M<sup>lle</sup> AYAD R.  
Examinatrice : M<sup>me</sup> BENHAMADA W.  
Encadreur : M<sup>me</sup> BEKKA F.

**Résumé**

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles issues de cinq plantes aromatiques locales (*Origanum glandulosum* Desf. *Thymus fontanesii* Boiss et Reut, *Thymus numidicus* Poirer, *Lavandula stoechas* et *Mentha pulegium*) et leur associations avec les antibiotiques sur des souches multirésistantes (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et *Escherichia coli* productrice de  $\beta$ -Lactamase à Spectre Elargi). L'étude de la cinétique de croissance par la méthode spectrophotométrique et la détermination de la courbe d'étalonnage par dénombrement donne un temps de génération qui est d'environ 22 min pour *E. coli* et 30 min pour le SARM. L'aromatogramme en milieu solide (méthodes des disques) a été utilisé pour évaluer l'activité de ces huiles essentielles ainsi que les associations huiles essentielles /antibiotiques. Toutes les huiles essentielles testées ont montré des effets plus ou moins importants sur les deux souches, l'huile essentielle de *Thymus numidicus* s'avère la plus efficace avec une activité plus prononcée. Trois types d'interactions sont observés lors de l'association HES/ATBs (antagonistes, et synergiques et indifférents), les interactions synergiques concernent beaucoup plus le SARM. La détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices a été effectuée par la méthode de microdilution en milieu liquide, les résultats obtenus allant jusqu'à 18.75  $\mu$ l/ml pour *E. coli* et 9.37  $\mu$ l/ml pour le SARM. L'effet des huiles essentielles testées sur la cinétique de croissance de SARM est plus au moins bactériostatique.

**Mots clés :** Activité antibactérienne, huile essentielle, l'aromatogramme, association HES/ATBs, bactérie.

**Abstract**

The aim of this study is to evaluate the antibacterial activity of essential oils from five local aromatic plants (*Origanum glandulosum* Desf, *Thymus fontanesii* Boiss and Reut, *Thymus numidicus* Poirer, *Lavandula stoechas* and *Mentha pulegium* L.) and their associations with different families of antibiotics on multi-resistant strains (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase-resistant *Escherichia coli*). The study of the kinetics of growth by the spectrophotometric method and the determination of the numbers cells gives a generation time which are approximately 22 min for *E. coli* and 30 min for the SARM. The aromatoqram was used to evaluate the activity of these essential oils and their associations' essential oils/ antibiotics. All essential oils tested showed effects more or less important against both strains, essential oil of *Thymus numidicus* were provided the strongest effect. Two types of interactions are observed (antagonists and synergistic) while the association EOs/ATBs, concerning the synergetic effects, they were observed mainly against SARM. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations was performed by micro-dilution broth methods, the results obtained up to 18.75  $\mu$ l/ml for *E. coli* and 9.37  $\mu$ l/ml for MRSA. Effect essential oils tested against the growth of MRSA kinetic is more or less bacteriostatic.

**Key words:** Antibacterial activity, Essential oil, the aromatoqram, association EOs/ATBs, bacteria.

**ملخص**

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيري لخمس زيت عطرية من منطقة محلية و هي: *Thymus fontanesii* (الزعتر) *Origanum glandulosum* Desf: (الخزامة) *Mentha pulegium* (اللبون) *Thymus numidicus* Poire Boiss, Reut (الزعتر) *Lavandula stoechas* وارتباطها مع المضادات الحيوية من عائلات مختلفة على السلالات متعددة المقاومة (المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين والإشريكية القولونية المنتجة للبيتا لاكتاماز ذو المدى الواسع. تم استخدام تقنية لارومتوگرام في الوسط الصلب (طريقة الأفراس) لتقييم نشاط هذه الزيوت العطرية وكذلك ارتباطها مع المضادات الحيوية. دراسة حركية النمو باستخدام طريقة السبيكتروفوميتر وتحديد منحنى المعايرة بالتحديد أعطى زمن التكاثر حوالي 22 دقيقة من أجل الإشريكية القولونية و 30 دقيقة من أجل المكورات العنقودية الذهبية. وأظهرت جميع الزيوت الأساسية اختبار أكبر أو أقل تأثير على كل من السلالات، وكان الزعتر أكثر النشاط وضوحا. لوحظ وجود ثلاثة أنواع من التفاعلات من خلال ارتباط الزيوت العطرية مع المضادات الحيوية (عدائية وتآزر وغير محدد)، تفاعلات التآزر تتجلى بشكل كبير على المكورات العنقودية الذهبية. تم تحديد التركيزات المثبطة ذات الحد الأدنى بطريقة التخفيفات المجهرية في الوسط المسائل للإشريكية القولونية 18.70 ميكرو لتر/ملي لتر و 9.37 من أجل المكورات العنقودية الذهبية. أثر الزيوت العطرية على الحركية نمو الجرثومة اختبار هو أكثر أو أقل جراثيم

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للبكتيريا الزيوت الأساسية بكتيريا, ارتباط الزيوت العطرية مع المضادات الحيوية تقنية لارومتوگرام.