



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessa –Tébessa-



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie appliquée.

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement

Thème

**Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits bioactives d'une plante médicinale
Vis-à-vis des bactéries présentant différents profils de sensibilité aux antibiotiques**

Mr.FERHI Ayoub

Présentée par :

Mr.MENASRIA Mohamed Taha

Devant le jury

DJABRI Belgacem	Professeur	Université de Tébessa	Président
GUESMI Salim	M.C.A	Université de Tébessa	Examineur
BENHADJ MEBROUKA	M.C.A	Université de Tébessa	Rapporteur
BOUGUERRA Nadia	M.A.B	Université de Tébessa	Co-Encadreur

Année universitaire : 2023/2024

REMERCIEMENTS

ON TIENT AVANT TOUT À REMERCIER LE BON DIEU LE TOUT PUISSANT QUI NOUS A DONNÉ LA FORCE, LA SANTÉ ET LA PATIENCE AFIN D'ACCOMPLIR CE MODESTE TRAVAIL.

NOUS ADRESSONS ÉGALEMENT NOS REMERCIEMENTS À NOTRE ENCADREUR **DR BENHADJ MEBROUKA**

NOUS REMERCIONS SINCÈREMENT **DR BOUGUERRA NADIA** POUR SES PRÉCIEUX CONSEILS ET SON AIDE DANS LA RÉALISATION DE CE TRAVAIL. MERCI À SA DISPONIBILITÉ, SA PATIENCE, SON SOUTIEN MORALE SES CONSEILS PERTINENTS QUI ONT ÉTÉ POUR NOUS UN SOLIDE REPÈRE ET RÉCONFORT DANS TOUS LES MOMENTS.

NOUS TENONS À REMERCIER **PR DJABRI BELGACEM** (PROFESSEUR AU DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE, UNIVERSITÉ DE TEBESSA) D'AVOIR FAIT L'HONNEUR D'ACCEPTER D'ÊTRE PRÉSIDENT DU JURY.

NOS VIFS REMERCIEMENTS VONT À **DR. GUESMI SALIM** (MAÎTRE DE CONFÉRENCES AU DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE, UNIVERSITÉ DE TEBESSA) POUR AVOIR ACCEPTÉ D'EXAMINER CE MODESTE TRAVAIL.

NOUS ADRESSONS AUSSI TOUS NOS REMERCIEMENTS À **DR. BOUKOUCHA MOURAD**, (MAÎTRE DE CONFÉRENCES AU DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE, UNIVERSITÉ DE TEBESSA) POUR VOTRE DISPONIBILITÉ, VOTRE PATIENCE ET VOTRE ENGAGEMENT DANS L'ACCOMPAGNEMENT DE CE TRAVAIL ET TOUT AU LONG DE NOTRE PARCOURS VOTRE EXPERTISE ET VOS CONSEILS AVISÉS ONT ÉTÉ ESSENTIELS À SA RÉUSSITE NOS REMERCIEMENTS LES PLUS SINCÈRES À TOUS NOS ENSEIGNANTS DU DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE TEBESSA POUR LEURS COMPÉTENCES ET EXPERTISES. MERCI SPÉCIAL POUR NOS COLLÈGUES ET AMIS ET TOUTES LES MICROBIOLOGISTES, ET LES TECHNICIENNES DU LABORATOIRE POUR LEUR AIDE CONTINUEL AU COURS DE LA RÉALISATION PRATIQUE DE CE TRAVAIL. NOUS SOUHAITONS ADRESSER NOS REMERCIEMENTS LES PLUS SINCÈRES AUX PERSONNES QUI NOUS ONT APPORTÉ LEUR AIDE ET QUI ONT CONTRIBUÉ À L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL.

DÉDICACE

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL :

A MES TRÈS CHERS PARENTS QUE DIEU LES PROTÈGE

A MON ADORABLE FRÈRE DHIA, A MON ADORABLE SCEUR WAHBA,

A MES CHÈRES AMIES : AMINA, AIDA, SALIM, MOHCEN. MICHOU, SISSOU ET ISLEM

A MON BINOME AYOUB

A MON PARTENAIRE BAYAN

A TOUTES MES CONNAISSANCES QUI M'ONT SOUTENU AU COURS CE TRAVAIL EN PARTICULIER.

A TOUS MES ENSEIGNANTS DU PRIMAIRE À CE JOUR,

A TOUS MES AMIS ET CAMARADES DE LA FILIÈRE MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE.

ET LE GRAND MERCI EST POUR NOTRE PEUPLE A GAZA

Menasria mohamed taha

DÉDICACE

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL À

MES CHERS PARENTS LA LUMIÈRE DE MA VIE

MON CHER FRÈRE ET MES CHÈRES SOEURS

TOUTE LA FAMILLE

MON BINOME TAHA

MES AMIS ET COPINES

LES CAMARADES DE L'UNIVERSITÉ DE CHEIKH LAARBI TEBESSI

FERHI AYOUB

RESUME

Les infections bactériennes un défi majeur pour la santé publique à l'échelle mondiale, l'émergence de souches bactériennes résistantes compromet l'efficacité des traitements conventionnels et constitue une menace croissante pour la santé humaine. La recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques est devenue une priorité essentielle. Dans ce sens notre étude a été menée pour évaluer l'efficacité des huiles essentielles de deux plantes médicinales *Laurus nobilis* et *Juniperus communis* contre des isolats bactériens avec différents profils de sensibilité aux antibiotiques. Les plantes sélectionnées ont été soumises à une extraction par hydrodistillation; les rendements enregistrés étaient de 0.85 % pour *Laurus nobilis* et 1.5 % pour *Juniperus communis*. L'activité antibactérienne a été réalisée par diffusion en milieu solide en appliquant différentes doses des HEs : 5 , 10 , 15 et 20 microlitres/disque. Une activité antibactérienne a été enregistrée avec les HEs de *Laurus nobilis* vis-à-vis l'espèce de *Staphylococcus aureus* par contre aucune activité n'a été enregistrée avec les HEs de *Juniperus communis* vis-à-vis de toutes les isolats bactériens Gram négatif et positif testés. Ces résultats qui sont prometteurs pour l'HEs de *Laurus nobilis* vis-à-vis des Staphylocoques peuvent être exploités pour de nombreuses applications comme alternatif aux molécules conventionnelles pour lutter contre les infections Staphylococciques ainsi que dans l'industrie agro-alimentaire pour préserver la contamination des aliments.

Mots Clés: *Laurus nobilis*, *Juniperus communis*, Huile essentielle, Rendement, Activité antibactérienne.

Abstract

Bacterial infections a major challenge for public health globally, the emergence of resistant bacterial strains compromises the effectiveness of conventional treatments and poses a growing threat to human health. The search for new therapeutic strategies has become an essential priority. In this sense our study was carried out to evaluate the effectiveness of essential oils of two medicinal plants *Laurus nobilis* and *Juniperus communis* against bacterial isolates with different antibiotic sensitivity profiles. The selected plants were subjected to extraction by hydrodistillation; the yields recorded were 0.85% for *Laurus nobilis* and 1.5% for *Juniperus communis*. The antibacterial activity was carried out by diffusion in a solid medium by applying different doses of EOs: 5, 10,15 and 20 microliters/disc. Antibacterial activity was recorded with the EOs of *Laurus nobilis* against the species of *Staphylococcus aureus*, however no activity was recorded with the EOs of *Juniperus communis* against all Gram-negative bacterial isolates. and positive tests. These results which are promoting for the HEs of *Laurus nobilis* against *Staphylococci* can be exploited for numerous applications as an alternative to conventional molecules to fight against *Staphylococcal* infections as well as in the food industry to preserve food contamination .

Keywords: *Laurus nobilis*, *Juniperus communis*, Essential oil, Yield, Antibacterial activity.

ملخص

تمثل الالتهابات البكتيرية تحديًا كبيرًا للصحة العامة على مستوى العالم، وظهور سلالات بكتيرية مقاومة يهدد فعالية العلاجات التقليدية ويشكل تهديدًا متزايدًا لصحة الإنسان. أصبح البحث عن استراتيجيات علاجية جديدة أولوية أساسية. وبهذا المعنى، أجريت دراستنا لتقييم فعالية الزيوت العطرية لنباتين طبيين *Laurus nobilis* و *Juniperus Communis* ضد العزلات البكتيرية ذات الأشكال المختلفة لحساسية المضادات الحيوية. تم إخضاع النباتات المختارة للاستخلاص عن طريق التقطير المائي؛ وكانت العائدات المسجلة لـ *Laurus nobilis* 0.85% و لـ *Juniperus Communis* 1.5%. تم تنفيذ النشاط المضاد للبكتيريا عن طريق الانتشار في وسط صلب من خلال تطبيق جرعات مختلفة من HEs ، 10,5 ، 15 و 20 ميكروليتر/قرص. تم تسجيل نشاط مضاد للبكتيريا مع المبيدات الحشرية لنبات *Laurus nobilis* ضد أنواع المكورات العنقودية الذهبية، ولكن لم يتم تسجيل أي نشاط مع المبيدات الحشرية لنبات *Juniperus Communis* ضد جميع العزلات البكتيرية سالبة الجرام والاختبارات الإيجابية. يمكن استغلال هذه النتائج التي يتم الترويج لها بالنسبة لـ *Laurus nobilis* ضد المكورات العنقودية في العديد من التطبيقات كبديل للجزيئات التقليدية لمكافحة عدوى المكورات العنقودية وكذلك في صناعة المواد الغذائية للحفاظ على تلوث الأغذية.

الكلمات المفتاحية: *Laurus nobilis*، *Juniperus Communis*، الزيت العطري، المحصول، النشاط المضاد للبكتيريا.

Liste des figures

Figure 01	Cibles de l'action des antibiotiques	05
Figure 02	Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques	10
Figure 03	Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d' <i>Origanum vulgare</i>	13
Figure 04	Principes schématisés de l'hydrodistillation	14
Figure 05	Principes schématisés de l'extraction par l'entraînement à la vapeur	14
Figure 06	Extraction par expression à froid	15
Figure 07	Dispositif de type Clevenger	24
Figure 08	Activité anti-bactérienne	27
Figure 09	Le séchage des plantes	29
Figure 10	Taux d'humidité de GC	30
Figure 11	Taux d'humidité de LN	30
Figure 12	L'huile essentielle LN <i>extraite</i> par hydrodistillation.	31
Figure 13	L'huile essentielle GC <i>extraite</i> par hydrodistillation.	31
Figure 14	Examen macroscopique d' <i>E. Coli</i> sur gélose Chromagar d'orientation (photo personnelle 2024)	32
Figure 15	Examen macroscopique de <i>Proteus</i> et <i>Klebsiella</i> sur gélose Chromagar d'orientation	32
Figure 16	Examen macroscopique de <i>S. aureus</i> et <i>Pseudomonas</i> sur gélose Chromagar d'orientation	33
Figure 17	Effet des HEs extraites à partir des deux plantes vis-à-vis sur <i>Escherichia coli</i>	35
Figure 18	Effet des HEs extraites à partir des deux plantes vis-à-vis <i>Klebsiella pneumoniae</i>	35
Figure 19	Effet des HEs extraites à partir des deux plantes vis-à-vis <i>Proteus mirabilis</i>	36
Figure 20	Effet des HEs extraites à partir des deux plantes vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Figure 21	Effet des HEs extraites à partir des deux plantes vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i>	37
Figure 22	Résultat de validation des tests	38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01	Classification botanique de <i>L.nobilis</i>	20
Tableau 02	Classification botanique de Juniperus communis	21
Tableau 03	Interprétation des diamètres de l'aromatogramme	27
Tableau 04	Variation du poids de l'échantillon de la plante en fonction de la durée de séchage.	29
Tableau 05	Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle	31
Tableau 06	Résultat de antibiogramme pour E,coli par vitek 2	33
Tableau 07	Résultat d'antibiogramme pour Klebsiella pneumoniae par vitek 2	34
Tableau 08	Résultat d'antibiogramme pour proteus par vitek 2	34
Tableau 09	Résultat d'antibiogramme pour Pseudomonas aeruginosa par vitek 2	34
Tableau 10	Résultat d'antibiogramme pour S.aureus	34
Tableau11	Les résultats de l'activité antibactérienne des HEs de L.nobilis et et J.communis	38

Liste des abréviations

% : pourcentage

AFNOR : Association française de normalisation.

CMI : concentration minimale d'inhibition

DMSO : Diméthylsulfoxyde

E-coli : *Escherichia coli*

g : gramme

HE : huile essentielle

k. pneumonie : *Klebsiella pneumonie*

L : litre

MH : Mueller Hinton

p. aeruginosa : *pseudomonas aeruginosa*

p. mirabilis : *Proteus mirabilis*

S. aureus : *staphylococcus aureus*

μL : microlitre

Table des matières

Remerciement

Dédicace

ملخص

Abstract

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : les antibiotiques

1. Historique	04
2. Les antibiotiques.....	04
2.1 Définition.....	04
2.2 Classification des antibiotiques	05
2.2.1 Critères de classification des antibiotiques.....	05
2.2.2 Classification selon le mode d'action.....	05
2.2.2.1 Les antibiotiques qui ciblent la paroi bactérienne.....	05
2.2.2.2 Les antibiotiques qui ciblent la membrane plasmique.....	06
2.2.2.3 Les antibiotiques qui ciblent les ribosomes	06
2.2.2.4 Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs.....	06
3. La résistance aux antibiotiques.....	07
3.1 Définition	07
3.2 Types de résistance aux antibiotiques	07
3.2.1 Résistance naturelle.....	07
3.2.2 Résistance acquise.....	07
3.2.2.1 Résistance chromosomique.....	07
3.2.2.2 Résistance extra chromosomique.....	08
4 Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	08

4.1 Inhibition enzymatique.....	08
4.2 La réduction de la perméabilité membranaire.....	09
4.3 La modification de la cible de l'antibiotique.....	09
4.4 L'expulsion du médicament	10

Chapitre 02 Les huiles essentielles

1. Huiles essentielles.....	12
1.1. Définitions.....	12
1.2. Localisation des huiles essentielles.....	12
1.3. Caractérisation et rôle physiologique des huiles essentielles	13
1.4. Techniques d'extractions des huiles essentielles.....	13
a) Hydrodistillation simple.....	13
b) Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	14
c) Expression à froid.....	15
d) Extraction par solvant organique.....	15
e) Extraction sans solvant assistée par micro-ondes.....	15
1.5. Composition chimique des huiles essentielles.....	16
1.6. Terpènes.....	17
a. <i>Monoterpènes</i>	17
b. <i>Sesquiterpènes</i>	17
2. Les plantes médicinales et aromatiques.....	17
2.1. Généralité	17
2.2. Les plantes étudiées	18
2.2.1 <i>Laurus nobilis</i>	18
a) Généralité.....	18
b) Origine et distribution.....	18
c) Description botanique.....	18
2.2.2 Genévrier	19
a) Généralité	19
b) Description botanique	19

PARTIE EXPERIMENTAL

Objectif générale.....	22
1. Matériel	23
1.1 Matériel non biologiques	23
1.2 Matériels biologiques.....	23
2. Méthodes.....	24
2.1 Extraction des huiles essentielles	24
a) Principe	24
b) Technique	25
2.2 Antibiogramme par viteek 2.....	25
2.3 Milieu de culture	26
2.4 Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> et de <i>Juniperus communis</i> (Aromatogramme).....	26
2.5 Lecture des résultats de l'aromatogramme	27
1. Résultats	29
1.1 La matière végétale	29
1.1.1 Le séchage de la plante.....	29
1.1.2 Le taux d'humidité.....	30
1.1.3 Rendement d'huile essentielle.....	30
1.1.4 Caractères organoleptiques.....	31
1.2 Confirmation de l'identification des souches bactériennes testés.....	32
1.3 Etude de l'activité antibactérienne.....	33
1.3.1 Antibiogramme.....	33
1.3.2 Aromatogramme.....	35
1.3.3 Etude comparative de l'activité des huiles essentielles de <i>L.nobilis</i> et <i>J.communis</i> avec les antibiotiques.....	38
1.3.4 Validation des tests.....	38

2. Discussion.....39

Conclusion et Perspectives

Références Bibliographique

Annexe

INTRODUCTION

Introduction

L'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques constitue un défi croissant pour la santé publique mondiale, nécessitant une exploration continue de nouvelles sources de composés antibactériens **WHO. (2014)**. Les plantes médicinales, riches en composés bioactifs, représentent une importante réserve de molécules potentiellement efficaces contre les agents pathogènes microbiens. Parmi ces plantes, le laurier noble (*Laurus nobilis*) et le genévrier (*Juniperus communis*) ont été historiquement utilisés pour leurs propriétés thérapeutiques, notamment pour leurs huiles essentielles aux multiples vertus pharmacologiques. **Ventola, C. L. (2015)**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils extraits de plantes, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Leurs activités biologiques ont été largement étudiées, mais il reste encore beaucoup à découvrir sur leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques contre les infections bactériennes **Duke, J. A. (2000)**. Dans cette optique, cette étude vise à évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de laurier noble et de genévrier vis-à-vis de bactéries présentant différents profils de sensibilité aux antibiotiques. **Adams, R. P. (2001)**

Le laurier noble, une plante largement distribuée en région méditerranéenne, est reconnu pour ses propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires, tandis que le genévrier, une conifère répandu dans les zones tempérées, possède également des composés aux activités antimicrobiennes bien documentées **Bakkali, F., et al. (2008)**. Cependant, malgré leur utilisation traditionnelle, peu d'études ont examiné systématiquement l'efficacité de leurs huiles essentielles contre un large éventail de bactéries, y compris celles présentant des profils de résistance aux antibiotiques. **Lis-Balchin, M., et al. (2003)**

En intégrant des méthodes microbiologiques standardisées, cette recherche vise à fournir des données précieuses sur le potentiel des huiles essentielles de laurier noble et de genévrier en tant qu'alternatives naturelles aux antibiotiques dans la lutte contre les infections bactériennes **Nazzaro, F., et al. (2013)**. Les résultats de cette étude pourraient non seulement contribuer à enrichir notre compréhension des propriétés pharmacologiques des plantes médicinales, mais également offrir des pistes prometteuses pour le développement de nouvelles thérapies antimicrobiennes. **Chouhan, S., et al. (2017)**.

CHAPITRE 01

Les antibiotiques

1. Historique

L'histoire des antibiotiques est intimement liée à l'évolution de la médecine et à la lutte contre les maladies infectieuses. Depuis leur découverte fortuite par Alexander Fleming en 1928, les antibiotiques ont sauvé d'innombrables vies et transformé la pratique médicale.

Les premiers antibiotiques naturels, comme la pénicilline, ont été dérivés de moisissures ou de bactéries. Ces découvertes ont ouvert la voie à une nouvelle ère de traitement des infections bactériennes, qui étaient auparavant souvent mortelles. Les antibiotiques ont rapidement été adoptés par la communauté médicale et ont permis de sauver des millions de vies pendant la Seconde Guerre mondiale. **(WHO, 2015)**

Dans les décennies suivant la découverte de la pénicilline, une multitude d'antibiotiques synthétiques et semi-synthétiques ont été développés, ciblant une large gamme de bactéries et d'infections. Cette diversification a permis d'étendre l'efficacité des antibiotiques à de nouvelles maladies et d'améliorer les traitements existants. **(WHO, 2015)**

L'avènement des antibiotiques a eu un impact profond sur la société humaine. L'espérance de vie a considérablement augmenté, les taux de mortalité infantile ont diminué et la qualité de vie s'est améliorée pour des millions de personnes. Les antibiotiques ont également permis de développer des interventions chirurgicales plus risquées et d'améliorer la santé des animaux d'élevage. **(WHO, 2015)**

Malheureusement, l'utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques a entraîné l'apparition de bactéries résistantes. Ce phénomène, connu sous le nom de résistance aux antibiotiques, constitue aujourd'hui une menace majeure pour la santé publique. Les bactéries résistantes aux antibiotiques sont devenues de plus en plus fréquentes et difficiles à traiter, ce qui entraîne une augmentation des infections mortelles. **(Laxminarayan et al., 2013)**

2. Les antibiotiques

2.1 Définition

Une substance dite antibiotique si elle inhibe les bactéries à faible concentration et si elle n'est pas toxique à cette dose pour l'homme, On réserve aussi ce terme antibiotique pour les substances produites par des microorganismes et agissent sur des autres microorganismes **(Yvon.M, 2009).**

Les antibiotiques

2.2 Classification des antibiotiques

2.2.1 Critères de classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon : **figure 01**

- a. Leur origine (naturelle, artificielle...)
- b. Leur structure chimique (dérivés d'acides aminés, hétérosides, polycycliques)
- c. Leur spectre d'activité (bactéricide, bactériostatique)
- d. Leur mode d'action (sur la paroi, la synthèse des protéines, d'ADN.)

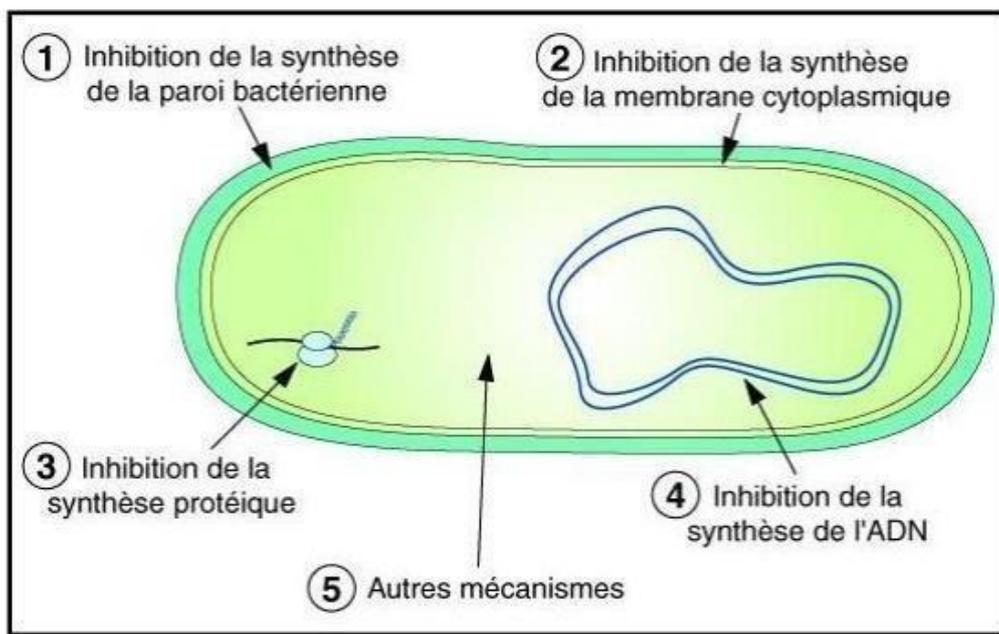


Figure 01. Cibles de l'action des antibiotiques (Garnier,1992)

2.2.2 Classification selon le mode d'action

2.2.2.1 Les antibiotiques qui ciblent la paroi bactérienne

C'est la mode d'action des bêta-lactamines (sous familles: Pénicillines et Céphalosporines). L'action de ces antibiotiques est portée par leur noyau bêta-lactame. En effet, ce noyau possède une très forte affinité pour le site catalytique des PLP (Protéines de Liaison à la Pénicilline), enzymes essentielles de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane (la Muréine) de la bactérie. Les PLP sont des transpeptidases, enzymes qui interviennent dans la stabilisation du peptidoglycane en formant les liaisons inter-peptidoglycanes. Le peptidoglycane est le constituant principal de la paroi de toutes les espèces bactériennes et une inhibition de sa synthèse entraîne la mort de la bactérie par choc osmotique. De ce fait, les inhibiteurs du peptidoglycane possèdent une activité bactéricide. (Benammar & Benaïssa & Zibari, 2022)

Les antibiotiques

2.2.2.2 Les antibiotiques qui ciblent la membrane plasmique

En raison de la similitude entre les membranes des cellules bactériennes et des cellules eucaryotes, les antibiotiques actifs sur la membrane sont toxiques et seul un nombre restreint de molécules a trouvé une utilisation thérapeutique. Les Polymyxines : Polymyxine B et Polymyxine E (colistine), sont constituées d'un polypeptide cyclique et d'un acide gras. Par leur extrémité hydrophobe, ces antibiotiques pénètrent à l'intérieur de la membrane et s'incorporent à la couche lipidique alors que l'extrémité hydrophile reste orientée vers l'extérieur. Il en résulte une désorganisation de la structure membranaire ce qui provoque la mort de la cellule. (Ayachi, 2011)

2.2.2.3 Les antibiotiques qui ciblent les ribosomes

Les ribosomes sont des organites présents dans les cellules eucaryotes et procaryotes (cellule bactérienne). Leur structure se compose de protéines et d'ARN. Ils synthétisent les protéines en decodant l'information contenue dans l'ARN messager. Ces organites comportent une petite sous-unité (qui se charge de lire l'information portée par l'ARN messager) et d'une grande sous-unité qui se charge d'intégrer les acides aminés. La plupart des antibiotiques qui ont pour cible les ribosomes interfèrent avec la synthèse protéique en induisant des erreurs de synthèse ou en inhibant cette synthèse. La cellule bactérienne est ainsi dans une incapacité de synthétiser des protéines qui lui sont vitales. (Benammar & Benaissa & Zibari, 2022)

2.2.2.4 Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs

L'acide désoxyribonucléique, ou ADN, est une macromolécule que l'on retrouve dans tous les organismes vivants, et qui constitue le support de l'information génétique (Bihan, 2009), en effet Certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication d'ADN en bloquant la progression de l'ADN polymérase. Les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques les quinolones et les fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase « cette dernière est une enzyme responsable de la fermeture et l'ouverture du brin d'ADN » (Badri et Necib, 2016).

Les antibiotiques

3 La résistance aux antibiotiques

3.1 Définition

Une souche bactérienne est considérée résistante à un antibiotique donné, lorsqu'elle est capable de croître en présence de cet antibiotique, à une concentration significativement plus élevée que celle normalement active sur les souches sensibles de cette espèce. Des espèces bactériennes ou certaines souches d'une même espèce bactérienne peuvent être résistantes à l'action d'un ou de plusieurs ATB. La résistance bactérienne résulte toujours de l'incapacité de l'ATB à agir sur sa cible, du fait de la réaction des bactéries vis à vis de l'ATB, exprimé par divers mécanismes (Bousseboua, 2005). Dans le domaine médical, une souche bactérienne est considérée résistante si le traitement ATB appliqué ne peut permettre d'atteindre une concentration sanguine de l'ATB au moins égale à sa concentration minimale inhibitrice (CMI) (Debabza, 2015).

3.2 Types de résistance aux antibiotiques figure 02

3.2.1 Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée (Lozniewski.A et al., 2010). Elle est permanente, stable est transmissible à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) comme la résistance des bactéries à GRAM négatif à la vancomycine est naturelle (Pierrot.S, 2015).

3.2.2 Résistance acquise

3.2.2.1 Résistance chromosomique

La résistance chromosomique résulte d'une mutation qui présente les caractères suivants :

- La rareté : une mutation se produit en moyenne toutes les 10⁵ à 10¹⁰ divisions mais compte tenu de l'importance des populations bactériennes dans un foyer infectieux, la probabilité d'existence d'une bactérie résistante à un antibiotique n'est pas négligeable.
- La spécificité : la mutation n'affecte généralement qu'un caractère et la résistance ne touche qu'un antibiotique ou une famille d'antibiotique ayant le même mode d'action. Il existe toutefois des exceptions notables à cette règle, comme par exemple chez *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa* où une seule mutation entraîne une résistance simultanée aux bêta-lactamines et aux aminosides.
- L'indépendance : La probabilité de deux mutations simultanées est très faible. Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques.

Les antibiotiques

- La transmissibilité : Une mutation résulte de la modification d'un gène, elle est permanente, sauf mutation reverse et elle a un caractère héréditaire (transmissible sur un mode vertical de la bactérie mère aux bactéries filles) (**Mehdi. S. 2008**)

3.2.2 Résistance extra chromosomique :

La résistance acquise extra-chromosomique dues aux plasmides se distingue de la résistance par mutation par deux caractéristiques principales :

- L'aptitude, par un plasmide à conférer la résistance a plusieurs antibiotiques : c'est la multi résistance.
- L'aptitude, pour un plasmide à se transférer dans une bactérie sensible par phénomène de conjugaison.

La résistance peut provenir de l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides, de bactériophages ou de transposons. On parle de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation (**Hadjou & Sedrati, 2018**)

4 Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les micro-organismes développent de la résistance

4.1 Inhibition enzymatique

Le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique. Ce mécanisme est décrit contre Les principales familles d'antibiotiques qui sont les β -lactamines, les aminosides, la famille des macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS) et les phénicolés. La production enzymatique peut être induite par un facteur externe (un autre antibiotique) ou constante (non affectée par stimulant externes). Exemple de résistance contre les β -lactamines par inhibition enzymatique cest La synthèse de β -lactamases : les β -lactamases sont des enzymes produites par les bactéries et transmises par des chromosomes ou des plasmides. Elles constituent un mécanisme de résistance très efficace. Les β -lactamases inactivent les lactamines en détruisant le lien amide sur le cycle lactame. (**Livermore, 1995**)

Les antibiotiques

4.2 La réduction de la perméabilité membranaire

Les bactéries à Gram négatif, dotées d'une enveloppe externe protectrice, constituent un défi particulier dans la lutte contre les infections. Cette enveloppe externe agit comme une barrière, limitant l'accès des antibiotiques aux protéines de liaison aux pénicillines (PLP) situées dans la membrane interne. Pour atteindre leur site d'action et neutraliser la bactérie, les antibiotiques doivent franchir cette barrière. **(Livermore, 1995)**

La résistance par imperméabilité cellulaire survient lorsque la perméabilité de la membrane interne ou externe diminue, entravant le passage des antibiotiques. Ce phénomène peut résulter de mutations affectant les porines, des protéines formant des canaux dans la paroi cellulaire. Ces mutations peuvent réduire le diamètre des canaux ou diminuer leur nombre, limitant ainsi l'accès des antibiotiques. **(Livermore, 1995)**

La résistance par imperméabilité est souvent multi-médicamenteuse, affectant simultanément plusieurs antibiotiques différents. En effet, de nombreux antibiotiques empruntent les mêmes porines pour pénétrer dans la bactérie. La résistance spécifique, en revanche, ne cible qu'un seul antibiotique, généralement suite à la perte d'une porine spécifique à cet antibiotique. **(Livermore, 1995)**

Un exemple de résistance spécifique est observé chez *Pseudomonas aeruginosa* face à l'imipénème, un antibiotique de la classe des carbapénèmes. Cette résistance résulte de la perte d'une porine spécifique à cette classe d'antibiotiques. **(Livermore, 1995)**

4.3 La modification de la cible de l'antibiotique

Pour que la synthèse d'une protéine s'effectue, le ribosome doit interagir avec un brin d'ARNm et des ARNt. Plusieurs antibiotiques, en particulier les aminoglycosides, les tétracyclines et macrolides, inhibent la synthèse des protéines en se liant aux sites de ces interactions. Certaines modifications mineures de ces sites peuvent neutraliser les 6 antibiotiques sans perturber le fonctionnement de la cellule bactérienne de façon appréciable **(GerardJ.Tortora et al. 2011)**

Les antibiotiques

4.4 L'expulsion du médicament

Certaines protéines de la membrane plasmiques des bactéries à Gram négative sont des pompes qui expulsent les antibiotiques et les empêchent d'atteindre la concentration requise pour qu'ils soient efficaces. C'est avec la tétracycline qu'on a observé ce mécanisme pour la première fois. On sait aujourd'hui qu'il confère la résistance à presque toutes les grandes classes d'antibiotiques. Les bactéries ont normalement un grand nombre de pompes pour éliminer les substances toxiques (**GerardJ.Tortora et al. 2011**)

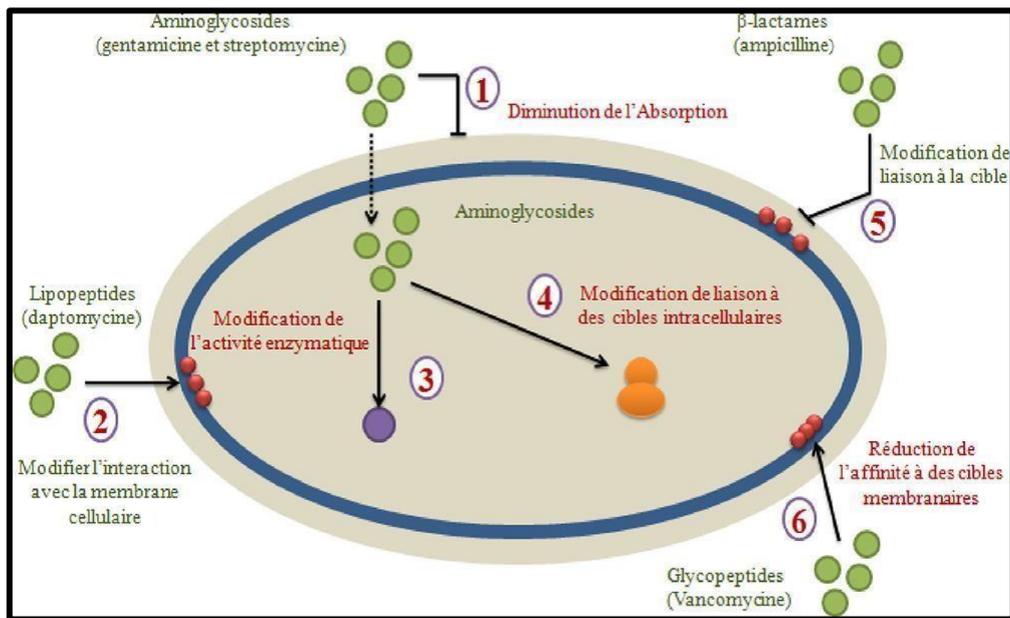


Figure 02 : Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Bouyahya et al.2008,**)

CHAPITRE 02

Les huiles essentielles

1. Huiles essentielles

1.1. Définitions

Les huiles essentielles comme étant : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ». (AFSSPS ; 2008)

1.2. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances volatiles et aromatiques contenues dans des végétaux et extraites le plus souvent par entraînement à la vapeur ou par expression. Les huiles essentielles ne sont pas présentes dans toutes les plantes : parmi les 800 000 espèces végétales recensées, seules 10% sont capables de synthétiser une essence. Ces plantes sont dites « aromatiques » (DEGRYSE, 2008).

Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs, de brindilles, d'herbes, d'écorces, de bois, de racines ou de fruits (BURT, 2004). L'huile essentielle se trouve dans des cellules sécrétrices spécifiques. Ce sont des structures histologiques spécialisées servant à leur synthèse et à leur stockage (**figure 3**). Ces cellules sécrétrices sont rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poches (Myrtacées, Rutacées), dans des canaux sécréteurs (Apiécées, Composées) ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées). Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante (KALOUSTIAN et HADJI-MINAGLOU, 2012).

Les plantes aromatiques comportent trois principales catégories d'appareils sécréteurs : les poils glandulaires épidermiques (figure 03), les poches et les canaux glandulaires schizogènes et schizolysigènes. Ce sont des cavités situées dans les parenchymes des feuilles, des tiges et des fruits, chez certaines espèces. Les structures glandulaires peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs. Rares sont les plantes chez qui ces structures sont présentes dans un seul organe. La plupart en sont pourvues dans toutes leurs parties (RAYMOND, 2005).



Figure 03 : Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d'*Origanum vulgare* (SVOBODA et al, 2000).

1.3. Caractérisation et rôle physiologique des huiles essentielles

Beaucoup de plantes produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu (Hellel, 2011)

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques de communication et de défense, ils permettent de tolérer les stress biotiques et abiotiques, et de communiquer des informations vitales à des insectes bénéfiques (des insectes pollinisateurs) (In Fernandez et Chemat 2012, Nouioua, 2012).

Les huiles essentielles sont considérées comme source d'énergie, facilitant certaines réactions chimiques, et réduisent la compétition des autres espèces de plantes par inhibition de la germination des graines. (Bakkali, 2008 In hellal, 2011)

1.4. Techniques d'extractions des huiles essentielles

L'extraction d'une HE est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour objectif, en effet, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétal, et cela sans en altérer la qualité (Boukhatem et al., 2019). L'extraction peut être réalisée au moyen de nombreux et divers procédés (Ouis, 2015), on distingue :

a) Hydrodistillation simple

C'est la technique la plus simple et la plus répandue (Ouis, 2015). Elle consiste à immerger la matière première directement dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition. Cette technique est généralement conduite à pression atmosphérique (Figure 04) (Boukhatem et al., 2019). La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange < Eau + Huile >, qui sera ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase

Les huiles essentielles

florentin. Après la condensation le mélange se sépare en une phase aqueuse et une phase organique: l'huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou sans Recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. La durée d'une HD peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (Lucchesi, 2005).

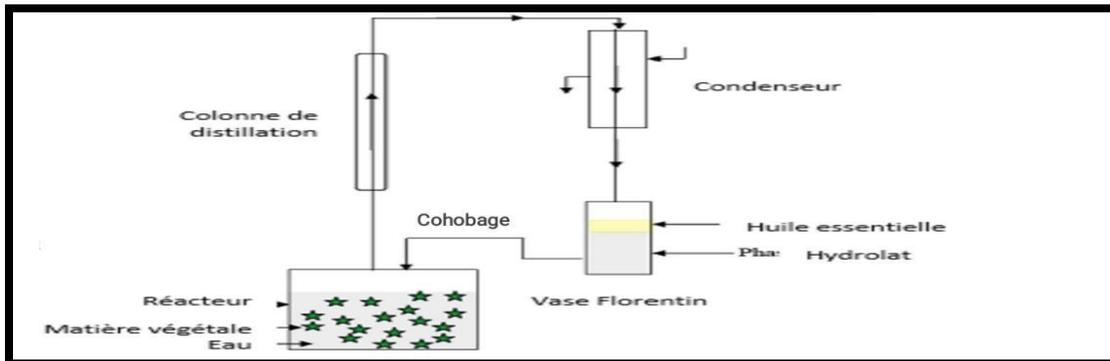


Figure 04: Principe schématisé de l'hydrodistillation (Boukhatem ,2019)

b) Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Cette technique représente l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE. Dans ce système (Figure 05), le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique (HE) (Boukhatem, 2019).

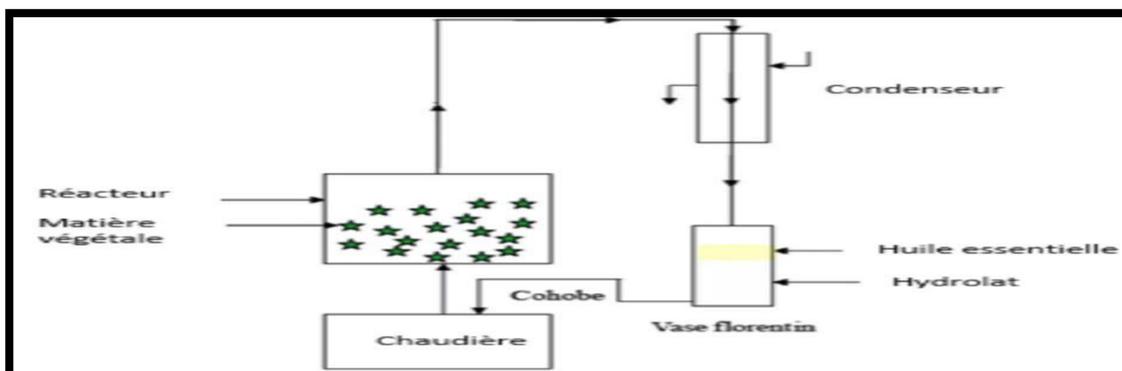


Figure 05 : Principe schématisé de l'extraction par l'entraînement à la vapeur (Boukhatem .2019).

Les huiles essentielles

c) Expression à froid

Cette extraction sans chauffage est réservée aux agrumes (Figure 05). Le principe de ce procédé mécanique consiste à éclater les minuscules vésicules et les poches à essences. L'essence ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau. Le procédé consiste à fixer le fruit sur une coupe équipée de lames et une seconde coupe pour l'enfermer. Un couteau circulaire creuse un trou à la base du fruit. L'application d'une pression sur les parois du fruit entraîne l'extraction du jus qui va être transporté jusqu'au collecteur pendant que l'essence est extraite de la peau et collectée à l'aide d'un jet d'eau. L'émulsion eau-essence est ensuite séparée par décantation (Mnayer, 2014).

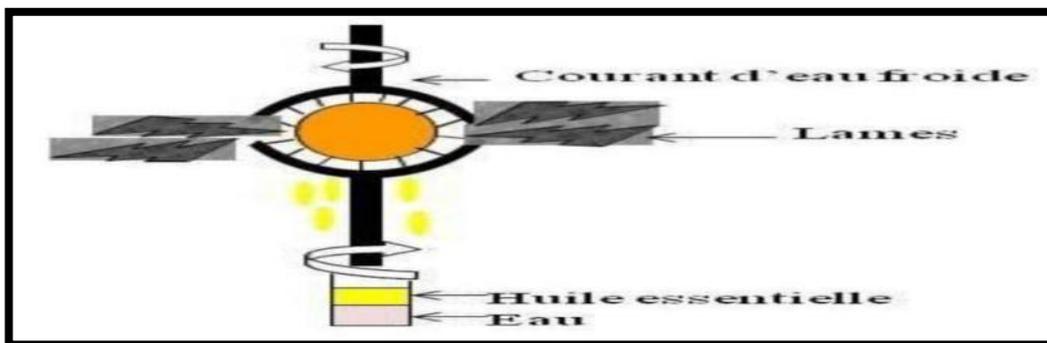


Figure 05: Extraction par expression à froid (Mnayer, 2014).

d) Extraction par solvant organique

La technique d'extraction « classique » par solvant, basée sur le placement dans un extracteur, d'un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique (Boukhatem *et al.*, 2019).

e) Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

Les micro-ondes constituent, par ailleurs, une méthode d'extraction en plein développement (Figure 06). Cette méthode permet de réaliser des extractions du matériel végétal frais à pression atmosphérique, sans ajout d'eau ou de solvant. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes. Le chauffage interne de l'eau intrinsèque de la plante permet de dilater ses cellules et provoquer la distillation azéotrope d'un mélange d'eau/huile essentielle (Mnayer, 2014).

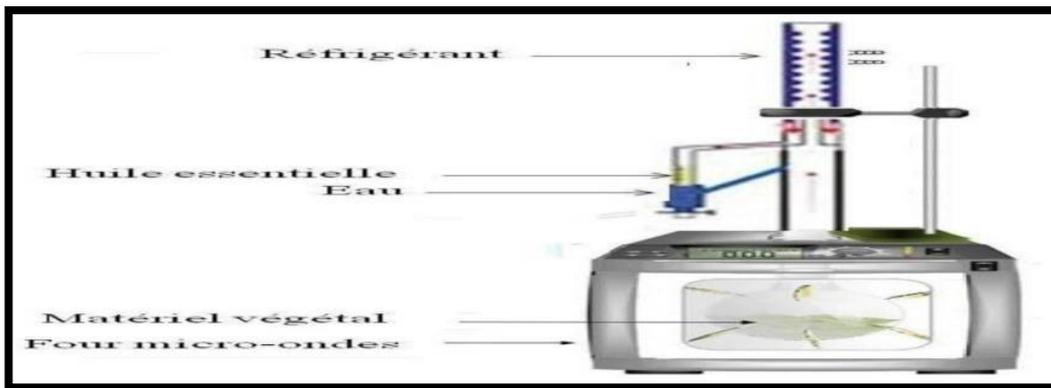


Figure 06 : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Mnayer, 2014).

1.5. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique de nombreuses huiles essentielles a été décrite dans plusieurs études. Elle varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (Delaquis et al., 2002 ; Gonny et al., 2004 ; Burt, 2004 ; Boti et al., 2006, Oussou, 2009). Les méthodes d'analyses des huiles essentielles ont beaucoup évolué et il est maintenant possible d'isoler et d'identifier des composés auparavant inconnus ; ceci permet le développement de nouveaux mélanges pouvant avoir un effet additif ou synergique (Marriott et al., 2000 ; 2001). Dans le domaine des huiles essentielles la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) est aujourd'hui, la technique de référence pour la séparation et la caractérisation des différents composés (Salzer, 1977 ; Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996).

Les huiles essentielles contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, appartiennent à deux groupes : terpènes et terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes et triterpènes) (Clarke, 2008 ; Baser & Buchbauer, 2010) d'une part, et le groupe de composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. Elles peuvent également contenir des hydrocarbures (terpènes et sesquiterpènes) et des composés oxygénés (alcools, esters, éthers, aldéhydes, cétones, phénols et éthers de phénol) (Bruneton, 2009).

Les huiles essentielles

1.6. Terpènes

Les composés de type terpénique sont largement rencontrés dans les HEs, ils sont formés d'un multiple pair ou impair d'unités de 2-méthylbuta-1,3-diène ou appelé encore isoprène (C₅H₈). On distingue ainsi selon le nombre d'entités isoprènes le groupe des monoterpènes (C₁₀H₁₆), les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄), les diterpènes (C₂₀H₃₂), les tétraterpènes de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes et les polyterpènes (C₅H₈)_n ou n peut-être de 9 à **(Hernandez-Ochoa, 2005)**.

a. Monoterpènes

Les monoterpènes sont les molécules les plus représentatives, constituant 90% des HEs et permettent une grande variété de structure, ils sont formés par le couplage de deux unités isopréniques (C₁₀H₁₆). Ces composés peuvent être: monoterpènes acycliques (myrcène, ocimène), monoterpènes monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène) ou monoterpènes bicycliques (pinènes, camphène, sabinène) **(El Haib, 2011)**.

b. Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques (C₁₅H₂₄), l'extension de la chaîne augmente le nombre de cyclisation qui permet une grande variété de structures : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques **(El Haib, 2011)**. Les plantes contenant ces composants sont: Angélique, Bergamote, Cumin des prés, Céleri, Citronnelle, Coriandre, Eucalyptus, Géranium, Genièvre, Lavande, Citron, Mandarine, Menthe, Pastille de menthe, Petit grain, Pin, Romarin et Thym **(Bakkali et al., 2008)**. Ils contiennent plus de 3000 molécules comme par exemple : β -caryophyllène, α -humulène, α -bisabolol, farnesol **(Brunton, 1999; Hernandez-Ochoa, 2005)**.

2. Les plantes médicinales et aromatiques :

2.1 Généralité

Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que les plantes aromatiques et médicinales ont toujours occupées une place importante en médecine. On appelle PAM toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir ou guérir des maladies . Habituellement, la plupart des végétaux renferment des HEs mais en quantité infime, alors que les plantes aromatiques en produisent en quantité suffisante. Les HEs peuvent être stockées dans différents organes végétaux : fleurs, feuilles, racines, graines, bois **(Echchaoui, 2018)**.

Les PAM représentent une catégorie importante des produits forestiers qui existent à l'état spontané. En plus des rôles pastoraux, énergétiques et environnementaux qu'elles jouent les

Les huiles essentielles

PAM ont de nombreuses utilisations : condiment, pharmacopée traditionnelles, industries pharmaceutiques et alimentaires (Aafi *et al.*, 2011).

2.2 Les plantes étudiées

2.2.1 *Laurus nobilis*

a) Généralité

Laurus nobilis est un arbuste de la famille des *Lauracées* qui comprend 2.500 - 3.500 espèces regroupées en une cinquantaine de genres (Alejo-Armijo *et al.*, 2017), à feuilles persistantes, sa hauteur peut arriver jusqu'à 2,15 m. Communément appelé laurier noble, il est très robuste et résiste à la sécheresse, à l'ombre, à la salinité et au vent de mer. C'est une plante aromatique originaire de l'espace méditerranéen (Labiad *et al.*, 2018).

Les feuilles et fruits de *L.nobilis* sont utilisés en médecine traditionnelle depuis l'antiquité contre rhumatismes, toux, maladies cardiaques, infections virales, diarrhées...etc, et comme stimulant général des sécrétions gastriques, carminatif, diaphorétique et antiseptique (Alejo-Armijo *et al.*, 2017).

b) Origine et distribution

Dans les temps anciens, la plante nommée « Daphné » a été définie comme *L.nobilis* par Goodyer en 1655 (El *et al.*, 2014). Un membre sempervirent naturel à croissance lente, de la région méditerranéenne et largement cultivé en Europe, en Asie, en Afrique du Nord et aux États-Unis comme plante ornementale (Alejo-Armijo *et al.*, 2017).

Il est cultivé commercialement pour ses feuilles aromatiques en Turquie, Algérie Maroc, Portugal, Espagne, Italie, France et Mexique. En Algérie, l'arbuste de laurier pousse à l'état sauvage dans la région du Tell. Il est cultivé localement sous le nom de « rend » (Bendjersi *etal.*, 2016).

c) Description botanique

L.nobilis est un petit arbre aux rameaux glabres et feuilles étroitement oblongues lancéolées et coriaces. Il est dioïque, avec des fleurs mâles et femelles sur des plantes séparées (Patrakar *et al.*, 2012).

d) Place dans la systématique

La systématique de *L.nobilis* est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 01: Classification botanique de *L.nobilis* (Patrakar *et al.*, 2012).

Royaume	Plantea
Division	Magnolids
Famille	Lauracées
Ordre	Lurales
Genre	Laurus
Espèce	<i>L. nobilis</i>

2.2.2 Genévrier

a) Généralité

Parmi les conifères, la tribu des **junipérées**, qui fait partie de la famille des cupressacées, ne comprend qu'un seul genre **Juniperus** (STASSI, *et al*, 1996). Le genre **juniperus** est le plus riche en espèces parmi les conifères, il comprend soixante espèces dans le monde, huit en méditerranée, et cinq en Algérie. il comprend des espèces rigides aux aiguilles piquantes et des espèces souples aux feuillages en écailles (ADAMS., 2004)

b) Description botanique

Selon les caractéristiques botanique et dendrologique, plusieurs chercheurs, ont classé le genre **juniperus** en différent sous-genres ou sections qui regroupent plusieurs espèces. Selon **EMBERGER(1968)**, le genre **juniperus** se présent, selon la morphologie des feuilles, en deux sections : la section **Sabina** qui a des petites feuilles en écailles (60 espèces) et la section **oxycedrus** qui a des feuilles en alène (10 espèces). Aussi **GAUSSEN (1968)** parlait de genre **juniperus** dans ses ouvrages monographiques des gymnospermes actuelles et fossiles. il a classé les espèces du genre **juniperus** en trois sous- genres et 10 sections en se basant sur les différents caractères dendrologique (cônes, graines, forme des feuilles, dimension des grains de pollen...) et la répartition Géographique. Par ailleurs **CALLEN (1976)**, **DEBAZAC (1991)** et **ADAMS (2004)** ont donné la systématique suivant du genre **Juniperus** :

Les huiles essentielles

Tableau 02 : Classification botanique de *Juniperus communis*

CALLEN (1976), DEBAZAC (1991) et ADAMS (2004)

Royaume	<i>Plantea</i>
Règne	Plantae
Famille	Cupressacées
Ordre	coniférales
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>communis</i>

PARTIE
EXPÉRIMENTALE

MATÉRIEL

ET

MÉTHODES

Matériel et méthodes

Objectif générale

L'objectif de ce travail est de contribuer à l'amélioration de la prise en charge de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs d'une plante médicinale vis-à-vis des bactéries présentant différents profils de sensibilité aux antibiotiques

Cadre d'étude

Ce chapitre est basé sur la description des différents matériels et méthodes expérimentales utilisés dans ce travail. Cette étude a été réalisée dans une durée de deux mois, au niveau de laboratoire de Microbiologie, Département de Biologie Appliquée, Université Larbi Tebessi - Tébessa-, au niveau de laboratoire d'analyse médicale ALAZHAR –Tébessa- et au niveau de laboratoire EPH BOUGUERRA BOULARASSE.

Notre étude a eu pour l'objectif de :

- Évaluer le rendement d'extraction par hydrodistillation des deux plantes médicinales
- Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des deux plantes sur différentes espèces bactériennes par méthode de diffusion sur gélose en utilisant la technique des disques.
- Étude de l'activité antibactérienne des différentes molécules conventionnelles synthétiques (ATBs) sur les mêmes souches bactériennes et détermination de profil de sensibilité aux antibiotiques.
- Étude comparative de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs par rapport aux antibiotiques.

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1 Matériels non biologiques :

Lors de la réalisation de nos expériences, aussi bien pour l'extraction des huiles essentielles de laurier et genévrier, nous avons utilisé le matériel de laboratoire suivant :

- Un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger, utilisé pour l'extraction des huiles essentielles, il se compose de trois compartiments essentiels :
 - Une chauffe ballon.
 - Un ballon en verre à fond rond de 1 litre.
 - Un réfrigérant.
- Etuve bactériologique.
- AUTOMATE VITEEK 2
- Des bocaux en verre pour récupérer les distillats.
- Ampoule à décanter pour la séparation de l'eau et huiles essentielles.
- Boîtes de Pétri de 10 cm de diamètre et de 2cm de hauteur.
- Milieux de culture (Mueller Hinton (MH), gélose chormagar).
- Ecouvillons.
- Verreries.
- Disques en papier (Wattman n°4).
- Tubes à essais.
- Micropipettes.
- Tube Eppendorf
- Eaux distillées et eaux physiologiques.
- DMSO

1.2 Matériels biologiques

1.2.1 Matériels végétaux

Collecter 2 kg des feuilles de *Laurus nobilis* et *juniperus communis* sont été récoltées dans la région de Tébessa Hammamet oued bouakouz (Algérie). Durant le mois de février ensuite séché à l'ombre pendant deux semaines. Les huiles essentielles ont été par la suite extraites

Matériel et méthodes

1.2.2 Souches bactériennes

Les souches bactériennes : **staphylococcus aureus**, **pseudomonas aeruginosa** , **proteus mirabilis**, **Klebsiella pneumoniae** et **E.coli** présentant différents profils aux antibiotiques ont été isolées depuis des infections urinaire et de pus et identifiées au niveau du laboratoire d'analyse médicale ALAZHAR TEBESSA

2 Méthodes :

2.1 Extraction des huiles essentielles

L'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles de *Laurus nobilis* et de *juniperus communis est* réalisée au niveau du laboratoire de recherche sur les Molécules Bioactives et Applications de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie université de Tébessa. L'extraction a été réalisée à l'aide d'un dispositif de type Clevenger (**figure 07**). Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'alcool puis rincé à l'eau distillée pour éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction.

a) Principe :

Cette technique est basée sur l'émersion d'une plante dans l'eau portée à ébullition, la vapeur saturée des HEs traverse un serpentin ou elle se condense pour obtenir le distillat qui est constitué d'une eau florale avec l'huile essentielle.



Figure 07 : dispositif de type Clevenger (photo personnelle 2024)

Matériel et méthodes

b) Technique

Pour faire l'extraction des plantes (*LN* et *JC*), les étapes suivantes ont été réalisées :

- 1- Peser 100g de la matière végétale (découper les feuilles de *LN* et *JC* en petits morceaux) et l'introduire dans un ballon d'une capacité de 1000ml, puis ajouter 1000ml d'eau distillée.
- 2- Mettre ce ballon dans le chauffe-ballon ensuite introduire l'ouverture du dispositif dans le ballon.
- 3- Alimenter le réfrigérant en eau et établir un équilibre entre les volumes d'eau présents dans l'appareil pour assurer la condensation des huiles.
- 4- Allumer le chauffe-ballon.

Après trois heures d'extraction, ouvrir le robinet afin de dégager l'eau florale, puis l'huile essentielle a été recueillies et conservées à 4C° dans un tube fermé et enveloppé par l'aluminium.

2.2 Antibiogramme par viteek 2

Des cultures bactériennes jeunes pour les souches isolées ont été mises en suspension dans l'eau physiologique (0,9 % NaCl) à des concentrations de 108 CFU/ml (0,5 McFarland).

- 1- Transférer 3ml de solution dans un tube 2
- 2- En utilisant les pipettes manuelles fournies avec le système, transférer de la suspension mère tube (1) vers le tube (2):
 - GRAM négatifs : 145ul du tube (1) vers le tube (2) avec la pipette manuelle rouge.
 - GRAM positifs et Levures : 280ul du tube (1) vers le tube (2) avec la pipette manuelle bleue.
- 3- Prendre une carte Antibiogramme et la placer sur la cassette en plongeant la paille de transfert dans le tube (2) contenant la suspension mère diluée.
- 4- Refaire les étapes sus cités pour les autres échantillons avant de charger la cassette dans le Vitek 2 Compact

Matériel et méthodes

2.3 Milieu de culture

Pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes traitées par huile essentielle de **Laurus nobilis** et de **Juniperus communis**, nous avons utilisé le milieu MH qui est la plus employé pour l'aromatogramme. La préparation de ce dernier se fait comme suite :

Peser avec précision une quantité de poudre déshydratée du MH équivalente 15,2g dans un Erlenmeyer, en y ajoutant 400 ml d'eau distillée. Le mélange de poudre-eau distillée est chauffé sur plaque chauffante avec agitation à l'aide d'un barreau magnétique pendant 20 min afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux.

Le milieu préparé est ensuite réparti dans deux flacons stériles avant d'être Autoclavé pendant 20 min à 120°C.

2.4 Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* et de *Juniperus communis* (Aromatogramme)

Une quantité suffisante des souches bactériennes pures a été récupérée à l'aide d'une anse de platine. La réactivation des souches se fait dans des tubes à vis contenant 5 ml de l'eau physiologique stérile puis homogénéisation par une faible agitation manuelle. Ensuite, un ensemencement d'une suspension bactérienne a été réalisé sur des boîtes pétris, contenant le milieu MH avec une épaisseur de 4mm à l'aide des écouvillons. Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 24 h dans une étuve réglée à une température de 37 °C. Trois disques stériles de papier wattman de 06 mm de diamètre contenant 5, 10, 15 et 20µl des huiles essentielles de **Laurus nobilis** et de **Juniperus communis** ont été déposés sur chaque disque, puis déposer sur la culture de chaque bactérie étalée sur le milieu MH. (Chebaibi et al. 2016; Da Silva Dannenberg et al. 2019).



Figure 08 : Activité antibactérienne (Photos personnelles, 2024)

2.5 Lecture des résultats de l'aromatogramme

La lecture se fait par la mesure du diamètre des zones d'inhibitions qui a apparu autour les disques à l'aide d'un pied a coulisse, les résultats expérimentaux sont représentés dans le **Tableau 03**.

Tableau 03. Interprétation des diamètres de l'aromatogramme (Hamidi, 2013)

Diamètre du halo d'inhibition (X)	Activite	Résultats
$X \leq 6$ mm	Absence	-
$6 \text{ mm} < X < 10$ mm	Faible	+
$10 \text{ mm} < X < 15$ mm	Bonne	++
$15 \text{ mm} < X < 20$ mm	Très bonne	+++
$X \geq 20$ mm	Excellente	++++

RÉSULTATS

ET

DISCUSSION

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1 La matière végétale

1.1.1 Le séchage de la plante

Le séchage est fait d'une manière naturelle dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires (figure 09), pendant une durée de 20 jours. L'évolution de cette étude est montrée dans le tableauxuivant.



Figure 09 : le séchage des plantes (photo personnelle 2024)

Tableau 4 : Variation du poids de l'échantillon de la plante en fonction de la durée de séchage.

Le jour	1	5	10	15	20
Poids de JC (g)	2000	1856	1652	1590	1590
Poids de LN (g)	2000	1732	1450	1378	1378

L'évaluation de cette opération montre que le poids de l'échantillon genévrier et laurier noble diminué avec l'augmentation de la durée de séchage ce pendant cette diminution atteint son maximum après 15 jours de séchage.

Résultats et discussion

1.1.2 Le taux d'humidité

Le taux d'humidité est calculé dans le but d'évaluer la teneur de la plante en eau aussi de représenté le taux de la matière sèche servir réellement pour l'extraction des huiles essentielles LN et JC. La détermination de l'humidité est présentée par la figure09 et 10

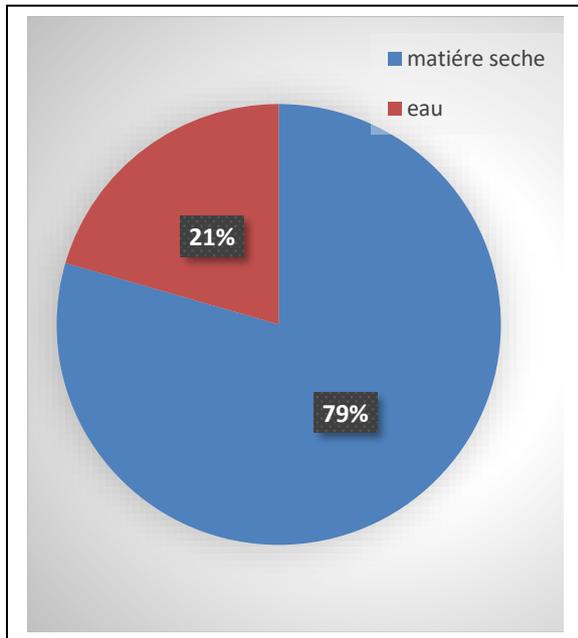


Figure 10 : taux d'humidité de JC

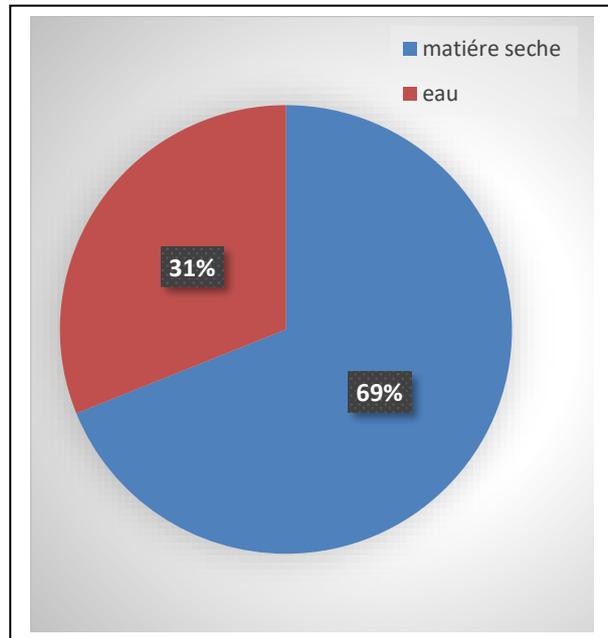


Figure 11 : taux d'humidité de LN

Pour un poids d'échantillon frais de 1590 g et un poids sec de 1000g, l'analyse des résultats montre que le taux d'humidité de l'HE est 21 %, ce qui signifie que 79% représente le taux de matière sèche qui va servir réellement à l'extraction d'huile essentielle genévrier.

Pour un poids d'échantillon frais de 1378 g et un poids sec de 1000g, l'analyse des résultats montre que le taux d'humidité de l'HE est 31 %, ce qui signifie que 69% représente le taux de matière sèche qui va servir réellement à l'extraction d'huile essentielle laurier noble.

1.1.3 Rendement d'huile essentielle

LN : Après avoir reçu l'échantillon de l'HE suite à l'extraction. Nous avons marqué les résultats suivants : notre échantillon d'HE est de 8,5g extrait à partir de 7 essais d'un poids initial de matière sèche de 1000g, le rendement moyen est de 0,85%.

JC : Après avoir reçu l'échantillon de l'HE suite à l'extraction. Nous avons marqué les résultats suivants : notre échantillon d'HE est de 15 g extrait à partir de 8 essais d'un poids initial de matière sèche de 1000g, le rendement moyen est de 1.5%.

Résultats et discussion

1.1.4 Caractères organoleptiques

Selon AFNOR (2000), les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.



Figure 12 : l'huile essentielle LN extraite par hydrodistillation.
(Photo personnelle 2024)



Figure 13 : l'huile essentielle JC extraite par hydrodistillation.
(Photo personnelle 2024)

Les caractéristiques organoleptiques d'HE extraite sont représentées dans le tableau suivant.

Les résultats ont montré que l'HE répond à la norme AFNOR (2000)

Tableau 05: Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle

La plante	Rendement	Aspect	Couleur	Odeur
Laurier noble	0.85 %	Liquide mobile limpide	Jaune très pale à jaune	Fraiche, puissante, aromatique, aux notes épicées
Genévrier	1.5%	Liquide mobile limpide	Jaune clair	Forte Boisée, légèrement poivrée, très agréable

Résultats et discussion

Les différentes caractéristiques organoleptiques sont propres à chaque huile essentielle, qui permet de définir cette huile essentielle exactement et de juger leur qualité pour autoriser leur utilisation dans l'industrie. Ces propriétés sont liées aux conditions climatiques et édaphiques de la région de récolte et l'état de la plante (Bouzidi N, 2016).

1.2 Confirmation de l'identification des souches bactériennes testés

Les résultats de l'examen macroscopique et microscopique sont présentés dans les figures ci-dessous.

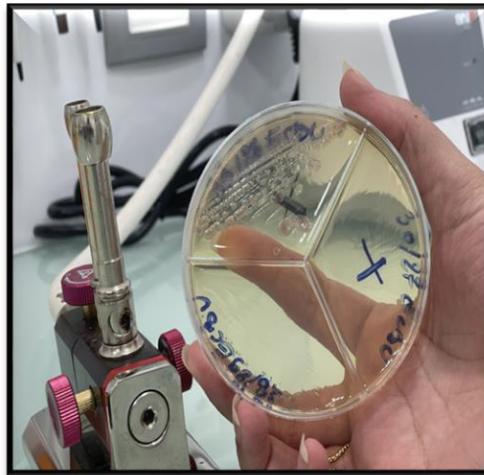


Figure 14 : Examen macroscopique d'E.Coli sur gélose Chromagar d'orientation (photo personnelle 2024)

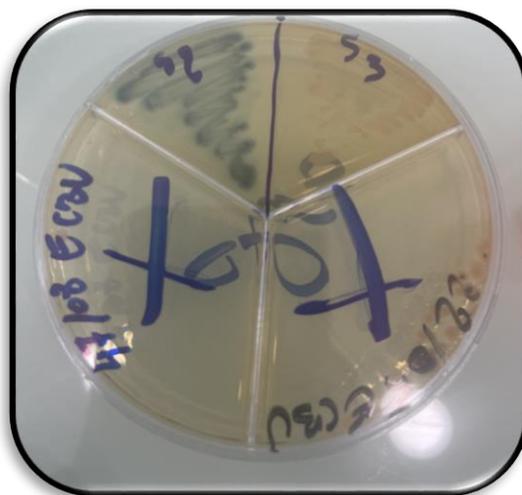


Figure 15 : Examen macroscopique de Proteus et Klebsiella sur gélose Chromagar d'orientation (photo personnelle 2024)

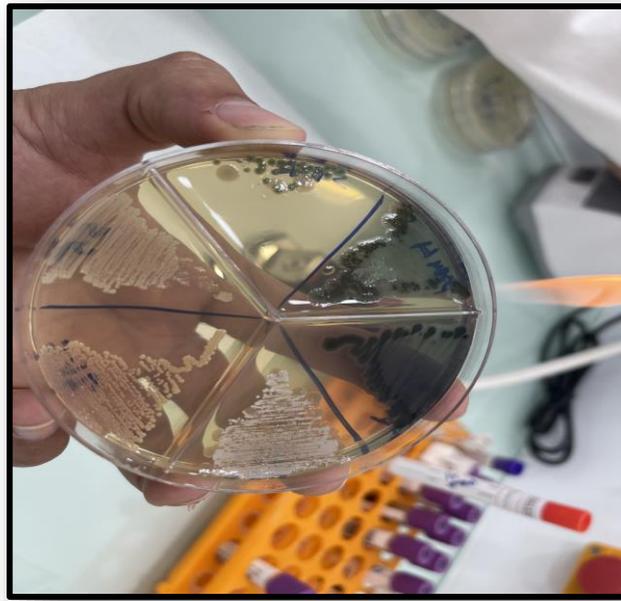


Figure 16 : Examen macroscopique de *S.aureus* et *Pseudomonas* sur gélose Chromagar d'orientation (photo personnelle 2024)

1.3 Etude de l'activité antibactérienne

1.3.1 Antibiogramme

Dans notre étude on applique l'antibiogramme de notre souche avec automate viteek 2.

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne des antibiotiques sont illustrés dans les tableaux **05 ,06 ,07,08 et 09**. Nos résultats montrent que les souches de *S. aureus*, *E.coli*, *proteus*, *klebsiella* et *pseudeumonas* présentent différents profils avec une résistance de haut niveau aux différents antibiotiques .

Tableau 05 : Résultat de l'antibiogramme pour *E.coli* par vitek

Antibiotiques	Interpretation	Antibiotique	Interpretation
Ampicilline	R	Amikacine	S
Amoxicilline/acide	R	Gentamicine	S
Pipéracilline/tazobactam	R	Ciprofloxacine	R
Céfazoline	R	Fosfomycine	R
Céfoxitine	S	Nitrofurantoïne	S
Céfotaxime	R	Chloramphénicol	S
Ceftazidime	S	Colistine	
Ertapénème	S	Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	S
Imipénème	S		

Résultats et discussion

Tableau 06 : Résultat d'antibiogramme pour *Klebsiella pneumoniae* par vitek 2

Antibiotiques	Interpretation	Antibiotique	Interpretation
Ampicilline	R	Amikacine	S
Amoxicilline/acide	S	Gentamicine	R
Pipéracilline/tazobactam	I	Ciprofloxacine	R
Céfazoline	S	Fosfomycine	R
Céfoxitine	S	Nitrofurantoïne	S
Céfotaxime	R	Chloramphénicol	S
Ceftazidime	I	Colistine	
Ertapénème	S	Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	S
Imipénème	S		

Tableau 07 : Résultat d'antibiogramme pour *Proteus* par vitek 2

Antibiotiques	Interpretation	Antibiotique	Interpretation
Ampicilline	R	Amikacine	S
		Gentamicine	S
Pipéracilline/tazobactam	S	Ciprofloxacine	R
Céfazoline	S	Fosfomycine	S
Céfoxitine	S	Nitrofurantoïne	S
Céfotaxime	R	Chloramphénicol	S
Ceftazidime	S	Colistine	
Ertapénème	I	Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	S
Imipénème	R		

Tableau 08 : Résultat d'antibiogramme pour *Pseudomonas aeruginosa* par vitek 2

Antibiotiques	Interpretation	Antibiotique	Interpretation
Ticarilline	S	Amikacine	S
Ticarilline/acideclavulanique	I	Gentamicine	R
Pipéracilline	S	Tobramycine	R
Pipéracilline/tazobactam	S	Ciprofloxacine	S
Ceftazidime	S	Péfloxacin	
Céfépime	S	Minocycline	
Aztréonam		Colistine	R
Imipénème	S	Rifampicine	
Méropénème	S	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	

Tableau 09 : Résultat d'antibiogramme pour *S.aureus*

Antibiotiques	Interprétation	Antibiotiques	Interprétation
Pénicilline G	R	Chloramphénicol	S
Oxacilline	S	Vancomycine	S
Amikacine	S	Rifampicine	S
Gentamicine	S	Triméthoprim sulfaméthoxazole	S
Erythromycine	S	Acide fusidique	S
Ofloxacine	S	Fosfomycine	S
Tétracycline	S		

Résultats et discussion

1.3.2 Aromatogramme

Dans notre étude l'évaluation qualitative de cette activité de l'huile essentielle
Sont été réalisé sur 5 bactéries par la méthode d'aromatogramme.



Figure 17 : Effet des HEs extraites a partir des deux plantes vis-a-vis Escherichia col



Figure 18 : Effet des HEs extraites a partir des deux plantes vis-a-vis *Klebsiella pneumoniae*



Figure 19 : Effet des HEs extraites a partir des deux plantes vis-a-vis *Proteus mirabilis*

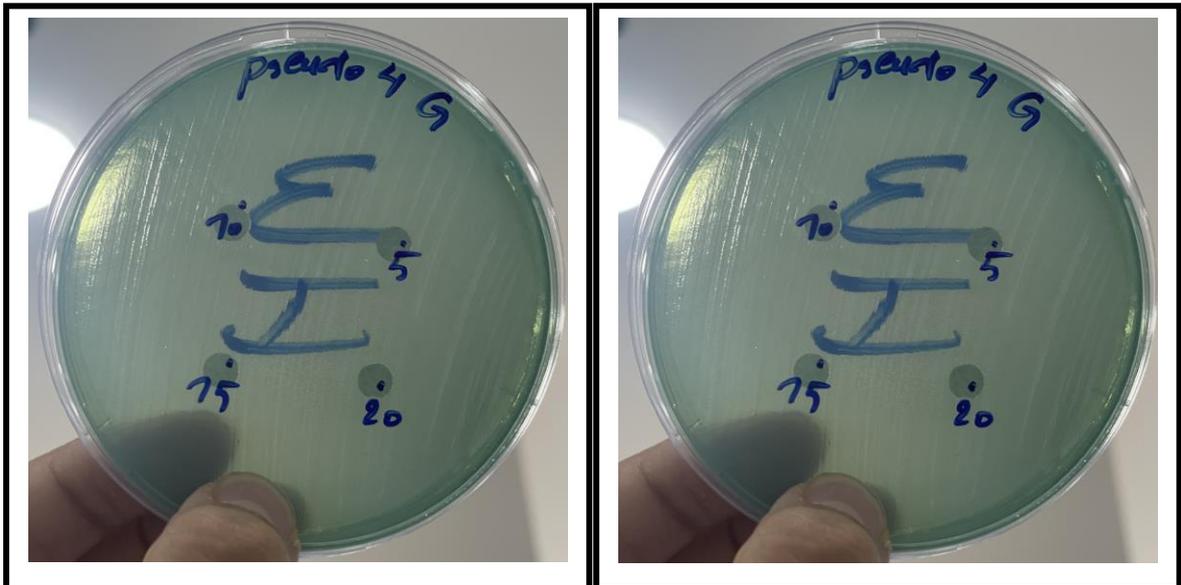


Figure 20: Effet des HEs extraites a partir des deux plantes vis-a-vis *Pseudomonas aeruginosa*

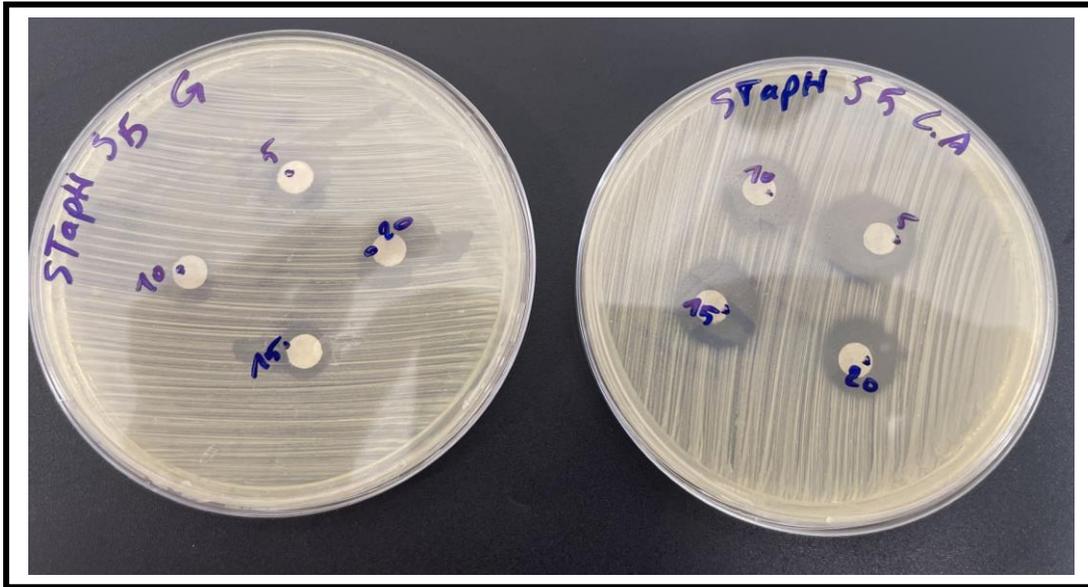


Figure 21: Effet des HEs extraites a partir des deux plantes vis-a-vis S.aureus

Les résultats de l'activité antibactérienne des HEs de *L.nobilis* et de *J.communis* sont illustrés dans les figures 17, 18, 19, 20 et 21.

Nos résultats montrent que les HEs **L.nobilis** exercent un effet antibactérien sur **S. aureus** par contre absence de l'activité antibactérienne sur les autres souche .

La mesure de la zone d'inhibition des huiles essentielles a permis de conclure que la l'activité antibactérienne des HEs de **L.nobilis** a été très bonne avec **S.aureus** testés avec un diamètre de 18 mm

Nos résultats montrent que les HEs **J.communis** exercent une absence de l'activité antibactérienne sur tous les souches testés.

Résultats et discussion

Tableau 10 : Les résultats de l'activité antibactérienne des HEs de *L.nobilis* et *J.communis*

Souches	Gram	<i>L.nobilis</i>	<i>J.communis</i>
<i>Escherichia coli</i>	-	A	A
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	A	A
<i>Proteus mirabilis</i>	-	A	A
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	A	A
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	P +++	A

A : Absence de l'activité antibactérienne

P : présence de l'activité antibactérienne

+++ : très bonne activité

1.3.3 Etude comparative de l'activité des huiles essentielles de *L.nobilis* et *J.communis* avec les antibiotiques

L'étude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles avec celles des antibiotiques testés a permis d'enregistrer une excellente activité à l'égard de souche de *S. aureus* présente profils d'antibiorésistance, et une absence d'activité antibactérienne avec les autres souches par contre une absence totale d'activité antibactérienne des HEs de *J.communis*

1.3.4 Validation des tests

Les souches testées ont été utilisées pour valider l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *L.nobilis* et *J.communis* l'utilisation du (DMSO) comme témoin négative (Figure 22).

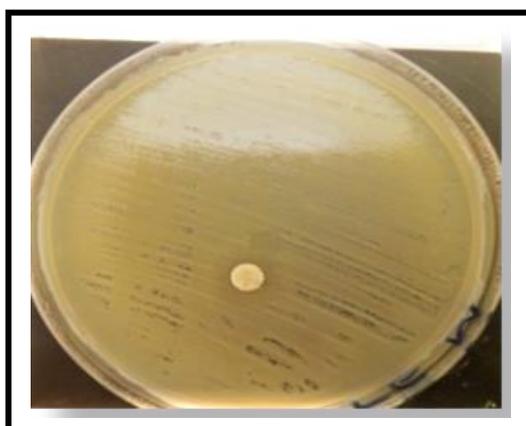


Figure 22 : résultat de validation des tests

DISCUSSION

DISCUSSION

La méthode d'extraction est une opération importante qu'il faut mener avec soin. Par ailleurs, la collecte, le séchage, et le stockage -tributaires à l'extraction- influencent largement sur le rendement ainsi que la qualité organoleptique des huiles essentielles (**Benjlali, 2005**). Le rendement en huile essentielle varie beaucoup avec la plante utilisée. Les résultats de notre étude ont montrés que le rendement le plus élevé est obtenu chez *L. nobilis* (0,85%) suivi par *J. communis* (1.50%). Il est à retenir que la variation du rendement d'extraction pourrait être attribuée à l'origine géographique de la plante, à la technique d'extraction, aux facteurs climatiques, mais également à la période de cueillette de la matière végétale et la partie de la plante étudiée (**Smith et al., 2005**).

Les résultats obtenus dans cette étude révèlent une absence d'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites à partir de Genévrier contre toutes les souches bactériennes testées. Cette observation est importante car elle suggère que les composés présents dans les HEs de Genévrier n'ont pas démontré d'efficacité contre les bactéries étudiées dans cette expérience. Cette absence d'activité antibactérienne soulève des questions sur les facteurs limitants qui pourraient contribuer à ce résultat. Il est possible que les composés présents dans les extraits de Genévrier n'aient pas la capacité d'inhiber la croissance bactérienne ou que les concentrations testées dans cette étude n'aient pas été suffisamment élevées pour produire un effet antibactérien significatif. **Zeraib, (2016)** a été démontré que l'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout de la nature des bactéries à Gram positif ou à Gram négatif ; les bactéries Gram+ sont plus sensibles que les bactéries Gram- vis-à-vis des huiles essentielles testées. Par ailleurs, de nombreuses études ont indiqués que la sensibilité d'un même germe vis-à-vis d'une même huile essentielle selon le mode de dispersion de l'huile essentielle dans le milieu de culture. D'autre part la grande variabilité des huiles essentielles qui ne sont jamais identiques à elles-mêmes (**Belaiche, 1979**). Des résultats similaires ont été signalés par **Angioni et al. (2003)** où les auteurs ont trouvé aucun effet antibactérien, contre la croissance de la souche testée, des huiles essentielles des baies mûres et non mûres et des feuilles de *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus phoeniceas spturbinata* et *Juniperus communis ssp communis*. En revanche, nos résultats trouvés pour la résistance *Escherichia coli* sont en accord avec ceux des auteurs. Ceci est approuvé aussi par certaines études qui ont rapporté l'inefficacité des huiles essentielles de *Juniperus* contre certains germes incluant *Escherichia coli* (**Ait- Ouazzou et al., 2012 ; Ramdani et al., 2013**). Mais ce n'est pas le cas dans les

DISCUSSION

travaux de **Derwich *et al.* (2010)** et ceux de **Bouyahyaoui *et al.* (2016)**, qui ont constaté des zones d'inhibition avec des diamètres plus ou moins importants ont été obtenus pour *Escherichia coli* vis-à-vis les huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*.

Nos résultats sont en accord aussi avec ceux présentés par **Pepeljnjak *et al.* (2005)** pour l'effet inhibiteur des huiles essentielles de *Juniperus communis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*. En effet, une étude de **Piberi (2005)** a montré que *Staphylococcus aureus* est sensible à plusieurs huiles essentielles de différentes plantes aromatiques. Ceci aussi correspond aux résultats attribués par **Bouzouita *et al.* (2008)**. Ainsi, **El-Sawi *et al.* (2007)** traitant l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* égyptien, ont montré que l'huile présente une bonne activité inhibitrice contre *Aspergillus niger*, *Candida sp* et *Bacillus subtilis*. D'après les auteurs l'activité pourrait être due à la richesse de l'huile essentielle en α -pinène. Plusieurs études ont rapporté que l'huile essentielle de *Juniperus thurifera* présentent une importante activité antibactérienne, contre notamment *Staphylococcus aureus*, et antifongique (**Barrero *et al.*, 2005 ; Mansouri *et al.*, 2010 ; Bahri *et al.*, 2013**). Alors que les huiles essentielles d'autres espèces du même genre n'inhibent pas la croissance des souches bactérienne (Ex : *Juniperus excelsa*) (**Weli *et al.*, 2014**).

De son cote, les HEs extraites a partir de *Laurus nobilis* possèdent une activite antibacterienne vis-a-vis de l'espece de *Staphylococcus aureus* multi-resistant. Des resultats similaires ont ete signales par **Merghni *et al.*, (2015)** qui ont montres que les huiles essentielles *L. nobilis* L. sont capables d'inhiber les souches de *S. aureus* avec une importante activité antibiofilm. Bien que les mécanismes associés aux activités antimicrobiennes des huiles essentielles ne soient pas entièrement compris (**Radaelli *et al.*, 2016**), le nombre d'études à ce sujet a augmenté au cours de ces dernières décennies (**Lambert *et al.*, 2001 ; Burt *et al.*, 2007 ; Turgis *et al.*, 2009**). La différence dans la sensibilité des souches testées peut être attribuée à la capacité de la pénétration des constituants de l'huile essentielle à travers la paroi cellulaire puis à la capacité de l'huile essentielle à rompre la barrière de perméabilité des membranes cellulaires et la perte du (**Ennajar *et al.*, 2010**). Il a été démontré que la majorité des huiles essentielles testées pour leur propriété antimicrobienne, ont un effet plus prononcé contre les souches Gram positives que contre les Gram négatives (**Kalemba et Kunicka, 2003 ; Trombetta *et al.*, 2005**). Cela est dû aux différences structurales entre les parois cellulaires. En effet, les Gram négatifs possèdent une membrane externe composée de chaînes de lipopolysaccharides. Cette couche forme une barrière de perméabilité hydrophile qui restreint la diffusion de composés hydrophobes tels que ceux présents dans les huiles essentielles

DISCUSSION

(**Nikaido et Vaara, 1985 ; Trombetta *et al.*, 2005**) Ceci pourrait expliquer leur forte sensibilité. De plus, **Moein *et al.* (2010)** ont révélé l'effet de la charge du disque sur la formation des zones d'inhibition d'où sur l'activité antimicrobienne.

Enfin, d'après **Oussalah *et al.* (2006)**, l'activité biologique d'une huile essentielle est en étroite relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre ces derniers et les composés mineurs. Car il est à signaler aussi qu'aucun des composants de l'huile essentielle n'a été un inhibiteur antibactérien ou antifongique plus puissant que l'huile elle-même. L'effet antimicrobien peut être le résultat de l'effet synergique de tous les composants ou l'activité d'un seul composant qui n'est pas encore identifié (**Filipowicz *et al.*, 2003**). Comme la variabilité de la composition chimique d'une huile essentielle influe son effet antimicrobien, il convient de signaler aussi que la composition elle-même est influencée par les facteurs suivants : la source botanique (espèce), le lieu de récolte du matériel végétal, période de la récolte, stade de développement, le sexe de la plante, l'état du matériel végétal (frais ou séché), et la technique d'extraction. Tous ces facteurs pourraient expliquer les différences constatées dans les résultats obtenus par la présente étude ainsi que par les travaux antérieurs.

CONCLUSION

Conclusion

conclusion

Ce modeste travail, s'inscrit dans une dynamique visant à valoriser et préserver deux plantes aromatiques et médicinales *Laurus nobilis* (Rand) et *Juniperus communis* (Arar), très utilisées traditionnellement par les populations locales pour le traitement de certaines maladies. Les méthodes et les techniques utilisées nous ont permis d'extraire les huiles essentielles et d'étudier l'activité antibactérienne.

- ✓ L'extraction par hydrodistillation de type Clevenger, a révélé un bon rendement de *Juniperus communis* (Arar) 1.5% contrairement à celui de *Laurus nobilis* (Rand) 0.85%.
- ✓ Concernant l'activité antimicrobienne nous avons constaté que les huiles essentielles de *Laurus nobilis* (Rand), présentent une bonne activité sur les souches microbiennes testées de *S. aureus* contrairement aux HEs de *Juniperus communis* (Arar) qui ne possèdent aucune activité anti-staphylococciques.
- ✓ Les HEs des deux plantes n'ont enregistré aucune activité vis-à-vis des bactéries à Gram négatifs.

A l'avenir, il serait intéressant de compléter le présent travail par :

- ❖ Caractérisation de la composition chimique des HEs extraites à partir de *Laurus nobilis* (Rand) par GC-MS.
- ❖ Purification des composés majoritaires et minoritaires de ces HEs et étudier leurs effets anti-oxydant et antibactérien.
- ❖ Évaluation de l'impact des variations saisonnières sur le rendement, la composition chimique et l'efficacité de ces huiles essentielles.
- ❖ Évaluer d'autres activités biologiques pour *Juniperus communis* (Arar) surtout antiparasitaire en l'absence d'une activité antibactérienne.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **Adams R .P.** 2004.juniperus of the world: the genus juniperus .Trafford publishing co., Vancouver, 494p.
2. **Adams, R. P. (2001).** Junipers of the World: The Genus Juniperus. Trafford Publishing
3. **AFSSAPS** (Association Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé) (2008). Recommandation relatives aux critères de qualité des huiles essentielles
4. **AFNOR.(2000).** Associationfrançaisedenormalisation;recueildenormefrançaise«huileessentielle»[enligne],AFNOR. Paris.<https://www.boutiqueafnor.org>.(Pageconsulterle26.05.2020)
5. **Alejo-armijo A, Altarejos J, Salido S. (2017).** Phytochemicals and biological activitiesof laurel tree (*Laurus nobilis*). *Natural Product Communications*. 12
6. **Ayachi H.** (2011) : Analyse de l'interaction Ribonucléase 3 Kanamycine par modalisation moléculaire. Mémoire de Magister 3université Abou_BakrBelkaid de Tlemcen. Algérie ;91p.
7. **Badri N et Necib T.** (2016) : Etude de la stabilité aux antibiotiques des souches des entérobactéries isolée de Fromage Fraise artisanale «Jben .»Mémoire de Master. Université Larbi Tébessi 3 tébessa , Algérie ; 62p.
8. **Bakkali, F., et al. (2008).** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
9. **Benammar, A.&Benaissa, N. &Zibari, K.** (2022). *Etude De Consommation D'antibiotique Et Résistance Aux Antibiotiques À Eph De Médéa* [Mémoire de Master, Université Yahia Fares - Médéa].
10. **Bendjersi FZ, Tazerouti F, Belkhelfa-slimani R, Djerdjouri B, Meklati B.** (2016).Phytochemical composition of the algerian *Laurus nobilis L.* Leaves extracts obtained by solvent-free microwave extraction and investigation of their antioxidant activity.
11. **Boukhatem MN, Ferhat A, Kameli A.** (2019). Méthodes d'extraction et de distillationdeshuilesessentielles: revue delittérature. *Revue Agrobiologia*.9(2):1653-1659.
12. **Bouzidi N. (2016).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoiseblanche « Artemisia herba alba Asso ». [En ligne]. Mémoire de master : microbiologieappliquée.Maxara.UniversitédeMustaphastambouli.70p.disponiblesur :<http://www.dspace.univ-maxara.dz>(pageconsulter le19.05.2020)
13. **BihanYv. (2009)** : Etude Structurale et fonctionnelle de la reconnaissance et de la métabolisation de lésions puriques et pyrimidiques dans l'ADN par la

Références bibliographiques

- Formamidopyrimidine - ADN glycosylase. Thèse de doctorat Université d'Orléans. France ; 251p.
14. **Callen G.(1976)** : Les conifères cultivés en Europe.Vol.01.Ed.Baillière.423p
 15. **Chouhan, S., et al. (2017)**. Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
 16. **Davies, J.** (2017). Are we heading for a post-antibiotic era? *Journal of the Royal Society of Medicine*, 110(1), 36-45.
 17. **Duke, J. A. (2000)**. *The Green Pharmacy Herbal Handbook*. Rodale Books
 18. **Debazac.E., 1991**. Manuel des conifères 2ème Edition. P252.
 19. **DEGRYSE A-C., DELPHA I., VOINIER M A. (2008)**. Risques et Bénéfices Possibles des Huiles Essentielles. Atelier santé environnement-IGS-EHESP, France.
 20. **Emberger L., 1968**.Les plantes fossiles dans leur rapports avec les végétaux vivants. Ed. Masson et Cie.758p
 21. **Gaussen H., 1968**. Les Gymnospermes actuels et fossils.fscieule X.Les Cupressacées. Travx. Labo. Forest. Toulouse. 326p.
 22. **GerardJ.Tortora et al.** (2011) .Introduction à la microbiologie .2eme Edition .Québec.Pearson .Edition du renouveau pédagogique INC.420-421 P.
 23. **Hadjou, I., &Sedrati, I.** (2018). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries: cas de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Thèse de Magister, Université Oum El Bouaghi.
 24. **HELLAL Z., 2011**, Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pulchardus*), Mém. Mag., univ. Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, p. 120
 25. **KALOUSTIAN .J et HADJI-MINAGLOU F. (2013)**. La Connaissance des Huiles Essentielles : Qualitologie et Aromathérapie : Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Collection Phytothérapie Pratique. Springer-Verlag. Paris
 26. **Knothe GP, Shah P, Kremery V, Antai M, Mitsuhashi S.** Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiellapneumoniae* and *Serratiamarcescens*. *Infection* 1983;11:315-7.
 27. **Labiad H, El jemli M, Marmouzi I, Chaouch A, Ghanmi M, Satrani B, Aljaiyash AE, Fadli M. (2018)**. Etude toxicologique et activité psychotrope des huiles essentielles de *Laurus nobilis* et de *Vitex agnus-castus*. *Phytothérapie*. 17 (5).

Références bibliographiques

28. **Laxminarayan, R.**, et al. (2013). Antibacterial-resistance: global threats and implications. *The Lancet*, 381(9877), 1251-1261.
29. **LOZNIIEWSKIA** et al. (2010). RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES. *CCLIN Sud-Est*.
30. **Lis-Balchin, M., et al. (2003)**. Biological effects of essential oils on inhalation aromatherapy: An overview. *Central European Journal of Public Health*, 11(1), 3–11.
31. **Livermore DM**. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *ClinMicrobiol Rev* 1995;8:557-84.
32. **Lucchesi ME. (2005)**. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de la Réunion. 143 p.
33. **McGonagle, B. M.**, et al. (2017). The microbiome: a new frontier for innovation in infectious disease drug discovery and development. *Nature reviews. Microbiology*, 15(11), 689-702.
34. **Mehdi. S. (2008)**. La fréquence des bactéries multi résistantes à l'hôpital Hassan II de Settat. THESE.[en ligne] .Pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED VI FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.
35. **Mnayer D. (2014)**. Eco-extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. 142 p.
36. **Nazzaro, F., et al. (2013)**. Antibacterial Activity of Three Mediterranean Essential Oils Against Foodborne Pathogens. *Journal of Medicinal Food*, 16(4), 333–337.
37. **Ouis N. (2015)**. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de doctorat. Université d'Oran 1. 196 p.
38. **Patrakar R, Mansuriya M, Patil P. (2012)**. Phytochemical and pharmacological review on *Laurus nobilis*. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*. 1(2): 595-602
39. **PIERROT.S., (2015)**. Portage de bactéries multi résistantes en structures d'accueil pour personnes âgées : évaluation d'une politique de dépistage cible en fonction des facteurs de risque. Université de LORRAINE.
40. **RAYMOND M. (2005)**. L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant. Thèse de Doctorat. Nantes, France.

Références bibliographiques

41. **SAADAoui, M.** (2008). La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat (Doctoral dissertation).
42. **SVOBODA K P., HAMPSON J B.** (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities.
43. **Ventola, C. L.** (2015). The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277–283.
44. **WHO.** (2014). Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014. World Health Organization
45. **World Health Organization.** (2015). Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014.
46. **Yvon.M.,** (2009). Une histoire de la résistance aux antibiotiques, Paris. P : 35.

ANNEXES

Annexe

Bactérie	Classification
<i>Escherichia coli</i>	Règne : <i>Bacteria</i> Embranchement : <i>Proteobacteria</i> Classe : <i>Gammaproteobacteria</i> Ordre : <i>Enterobacterales</i> Famille : <i>Enterobacteriaceae</i> Genre : <i>Escherichia</i> Espèce : <i>Escherichia coli</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Règne : <i>Bacteria</i> Division : <i>Firmicutes</i> Classe : <i>Bacilli</i> Ordre : <i>Bacillales</i> Famille : <i>Staphylococcaceae</i> Genre : <i>Staphylococcus</i> Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Règne : <i>Bacteria</i> Division : <i>Proteobacteria</i> Classe : <i>Gammaproteobacteria</i> Ordre : <i>Pseudomonadales</i> Famille : <i>Pseudomonadaceae</i> Genre : <i>Pseudomonas</i> Espèces : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Règne : <i>Bacteria</i> Division : <i>Firmicutes</i> Classe : <i>Bacilli</i> Ordre : <i>Bacillales</i> Famille : <i>Staphylococcaceae</i> Genre : <i>Staphylococcus</i> Espèce : <i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Règne : <i>Bacteria</i> Embranchement : <i>Proteobacteria</i> Classe : <i>Gammaproteobacteria</i> Ordre : <i>Enterobacterales</i> Famille : <i>Enterobacteriaceae</i> Genre : <i>Klebsiella</i> Espèce : <i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	Règne : <i>Bacteria</i> Embranchement : <i>Proteobacteria</i> Classe : <i>Gammaproteobacteria</i> Ordre : <i>Enterobacterales</i> Famille : <i>Enterobacteriaceae</i> Genre : <i>Proteus</i> Espèce : <i>Proteus mirabilis</i>



Département de biologie appliquée
 Filière : Sciences biologiques
 Spécialité : Microbiologie appliquée
 Année universitaire 2023/2024

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (A joindre obligatoirement avec le mémoire)

Je, soussigné(e)

Nom et prénom : Moussaïa Mohamed Taha
 Régulièrement inscrit (e) :

N° de carte d'étudiant :

161734034183

Année universitaire : 2024

Domaine : Sciences de la nature de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé : Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits
 de plantes médicinales algériennes (M. S. A. V. I. ?) des bactéries
 à spectre d'action positif de sensibilité aux antibiotiques

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité, je certifie également que je n'ai ni copié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité de plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année de Master.
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le 21/07/2024

Signature de l'étudiant (e)

(Red stamp and signature area)

(Red stamp and signature area)



Département de : *biologie appliquée*
 Filière : *sciences biologiques*
 Spécialité : *Microbiologie appliquée*
 Année universitaire 2023/2024

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (A joindre obligatoirement avec le mémoire)

Je, soussigné(e)
 Nom et prénom : *Ferhi Ayoub*
 Régulièrement inscrit (e) :

N° de carte d'étudiant : *161.634.018601*

Année universitaire :

Domaine : *Science et nature de la vie*

Filière : *Sciences biologiques*

Spécialité : *Microbiologie Appliquée*

Intitulé :

*Evolution de l'activité antibactérienne des extraits
 bioactives d'une plante médicinale vis-à-vis des bactéries pathogènes*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité, je certifie également que je n'ai ni copié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité de plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année de Master.
- L'exclusion définitive.

21 جويلية 2024

Fait à Tébessa, le : *21/07/2024*
 Signature de l'étudiant (e)

[Handwritten signature]





Département de : *biologie appliquée*
 Filière : *sciences biologiques*
 Spécialité : *microbiologie appliquée*
 Année universitaire 2023/2024

Formulaire de levée de réserves après soutenance d'un Mémoire de Master

Données d'identification du candidats (es) :

Nom et prénom du candidat : *M. enadim M. Taba / Fati Ayoub*

Intitulé du Sujet : *Evolution de l'activité antibiogramme de souches bactériennes d'origine pluri-médicamentées en présence de différents antibiotiques*

Données d'identification du membre de jury :

Nom et prénom : *Boukerajj Radouche*

Grade : *M.C.A*

Lieu d'exercice : Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi – Tébessa-

Vu le procès-verbal de soutenance de la thèse sus citée comportant les réserves suivantes :

R.A.S

Et après constatation des modifications et corrections suivantes :

R.A.S

Je déclare en ma qualité de président de jury de soutenance que le mémoire cité remplit toutes les conditions exigées et permet au candidat de déposer son mémoire en vue de l'obtention de l'attestation de succès.

Tébessa le : *21/07/2024*
 Président de jury de soutenance :
 (Nom/Prénom et signature)



Dr Boukerajj