



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique.
Université Larbi Tébessi – Tébessa –
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN BIOLOGIE.

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

L'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* sur des souches pathogènes multi résistantes

Présenté par :

Bouزيد Asma

Zinai Radhia

Devant le jury :

Dr. Ferhi S.	MCA	Présidente
Dr. Zouaoui N.	MCB	Examineur
Mme. AZIZI N.	MAA	Encadreur

Année universitaire 2021/2022

REMERCIEMENTS

*Nous tenons tout d'abord à remercier **DIEU** le tout-puissant qui nous a guidés vers le chemin
du savoir et pour tous ses bienfaits.*

*Premièrement, spécial Remerciement à notre promotrice «**Mme. Azizi Nassima** » d'avoir
dirigé ce travail avec beaucoup de compétences*

Merci pour votre indéfectible disponibilité,

*Votre rigueur scientifique et la confiance que vous nous avez accordée au cours de
l'élaboration de ce mémoire.*

Merci pour votre aide et votre encouragement ;

Merci pour l'acuité de vos critiques et pour vos conseils éclairés.

Nos remerciements vont également :

*A « **Dr. Ferhi S** » pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*A « **Dr. Zouaoui N** » pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Nos sincères remerciements s'adressent aux enseignants de l'Université **Larbi Tebessi**
pour tout le savoir qu'ils ont su nous transmettre durant ces dernières années.*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail, fruit de mes études...

A mes chères parentes

Le meilleur homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et mon bonheur, celui qui s'est toujours souffié pour me voir réussir , *à toi mon père Messaoud*

La lumière de mes jours, la flame de mon cœur, la source de mes efforts, mon bonheur et ma vie, qu'elle est toujours sacrifiée pour me voir réussir, *à toi ma mère Nadjett*

A La personne la plus chère à mon cœur ma sœur , *Rokaia*

A mes chères frères , pour l'attention, l'amour et l'aide que vous m'avez apportés. je Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. que Dieu vous protège pour nous

A mon encadreur *Mme Azizi Nassima* , merci beaucoup de m'avoir accepté dans votre équipe de recherche, et merci pour tout.

A ma binôme *Radia* , qu'Allah te garde le meilleur pour l'avenir.

A tous mes amis , qu'on a passé des merveilleux souvenir durant ces années d'études et qui m'ont toujours soutenu et encouragé. Je vous souhaite plus de succès .

ASMA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes parents qui ont toujours cru en moi qui ont toujours été présents avec leur soutien,
leur patience, et leur encouragement durant tout mon parcours scolaire

A mes sœurs Bassma ,Amina, Nesrine ,AnghameSaaida, Rabiaa et Saliha ,Amel ,Samah et
mes frères Hossine ,Hicheme Louay, qui n'ont jamais arrêté de
m'encourager

A mes amies : Mahdi ,Nour, Housseem , Douha ,Nada ,Saloua ,Zouhour ,Chaima ,Bouthaina
,Khaoula .

Sans oublier mon binôme Asma qui était toujours présente, je te
remercie

A tous ce qui mon aidé de près ou de loin pour la réalisation de
ce travail je vous remercie.

A tous les êtres chers à mes yeux que je n'ai pas évoqués

A tous ceux et toutes celles que j'ai involontairement omis de
citer et qui n'en demeurent pas moins *chers*.

Radhia

Résumé

La recherche de nouveaux traitements contre les maladies infectieuses est un sujet de pleine actualité : l'émergence et la dissémination des mécanismes de résistance aux antibactériens pose un véritable problème de santé publique. Il y a urgence à trouver et à proposer des nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement de ces infections. Dans ce contexte, les Huiles Essentielles (HEs) connues et utilisées depuis des siècles pour leurs propriétés anti-infectieuses, peuvent se révéler être une alternative au «tout antibiotique ». Pour démontrer l'effet de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia*, un rendement de **4.29%** a été obtenu par une hydro distillation de type clevenger. Cette huile essentielle est appliquée sur des souches bactériennes pathogènes multi résistantes par la méthode de diffusion sur gélose, pour tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles. On a pu démontrer leurs réelles propriétés antibactériennes vu aux zones d'inhibitions obtenus, à savoir pour les souches Gram positifs et Gram négatifs et que l'HE de *Lavandula angustifolia* a un effet très significatif avec une sensibilité totale pour les souches Gram positifs par rapport aux Gram négatifs.

Dans un contexte thérapeutique, l'utilisation de l'huile essentielle de *L. angustifolia* contre des infections bactériennes montre une alternative très importante pour le traitement des maladies infectieuses bactériennes et que l'HE peut remplacer l'usage de tout antibiotique.

Mots clés : *Lavandula angustifolia*, huile essentielle, souches pathogènes, Gram positifs, Gram négatifs.

Abstract

The search of new treatments against infectious diseases is a highly topical subject: the emergence and dissemination of mechanisms of resistance to antibacterials pose a real public health problem. There is an urgent need to find and propose new therapeutic approaches for the treatment of these infections. In this context, Essential Oils (EOs) known and used for centuries for their anti-infectious properties, can prove to be an alternative to “all antibiotics”. To demonstrate the effect of the essential oil of *Lavandula angustifolia*, a yield of 4.29% was obtained by Clevenger-type hydro distillation. This essential oil is applied to multi-resistant pathogenic bacterial strains by the agar diffusion method, to test the antibacterial activity of essential oils. We have been able to demonstrate their real antibacterial properties seen in the zones of inhibition obtained, namely of Gram positive and Gram negative strains and that the HE of *Lavandula angustifolia* has a very significant effect with total sensitivity for Gram positive strains by contribution to Gram negatives.

In a therapeutic context, the use of the essential oil of *L. angustifolia* against bacterial infections shows a very important alternative for the treatment of bacterial infectious diseases and that EO can replace the use of any antibiotic.

Keywords: *Lavandula angustifolia*, essential oil, pathogenic strains, Gram positive, Gram negative.

ملخص

البحث عن العلاجات الجديدة ضد الأمراض المعدية هو موضوع جديد ، ظهور و انتشار آليات مقاومة المضادات البكتيرية تطرح مشكل حقيقي في الصحة العمومية ، يوجد إستعجال في إيجاد و طرح أساليب علاجية جديدة لعلاج هذه الإلتهابات . في هذا السياق ، يمكن أن تكون الزيوت العطرية المعروفة والمستخدمه لعدة قرون لخصائصها المضادة للعدوى بديلاً لـ "جميع المضادات الحيوية". لإثبات تأثير الزيت العطري من *Lavandula angustifolia* ، تم الحصول على مردود بنسبة 5.73% عن طريق التقطير المائي من نوع Clevenger. يتم تطبيق هذا الزيت العطري على سلالات بكتيرية ممرضة متعددة المقاومة عن طريق طريقة انتشار أجار ، لاختبار النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية. لقد تمكنا من إثبات خصائصها الحقيقية المضادة للبكتيريا التي شوهدت في مناطق التثبيط التي تم الحصول عليها ، وهي سلالات الجرام الموجبة والسالبة الجرام وأن HE من *Lavandula angustifolia* له تأثير كبير جداً مع الحساسية الكلية للسلالات الموجبة للجرام من خلال المساهمة في السلبات الجرام . في السياق العلاجي يظهر استخدام الزيت العطري *Lavandula angustifolia* ضد الالتهابات البكتيرية بديلاً مهماً للغاية لعلاج الامراض المعدية البكتيرية و ان الزيت الأساسي يمكن ان يحل محل استخدام أي مضاد حيوي .

الكلمات المفتاحية :

Lavandula angustifolia . زيت عطري ، سلالات ممرضة ، موجبة الجرام ، سالبة الجرام

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Partie 1 : Partie bibliographique

Introduction	01
Chapitre I : <i>Lavandula angustifolia</i> et les huiles essentielles	
1. <i>Lavandula angustifolia</i>	03
1.1. Etude botanique.....	03
1.2 Taxonomie.....	03
1.3. Répartition géographique en Algérie	05
1.4. Etude phytochimique des différents produits de <i>Lavandula angustifolia</i>	05
1.5. Usage thérapeutiques traditionnelles de <i>Lavandula angustifolia</i>	05
2. Les huiles essentielles.....	06
2.1 .Définition.....	06
2.2. Localisation des huiles essentielles	06
2.3. Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	07
2.4. Composition et Propriétés physicochimique	07
2.5. Méthodes de conservation des huiles essentielles	08
2.6. Les effets biologiques des HEs.....	08
2.7. Méthodes d'extractions.....	09
2.7.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	09
2.7.2. Hydro distillation.....	09
2.7.3. Extraction par expression.....	10
2.7.4. Expression à froid	10
Chapitre 02 : Les bactéries pathogènes multirésistantes.	
1. Les bactéries à Gram positif.....	11
1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
1.1.1. Taxonomie.....	11
1.1.2. Habitat.....	12
1.1.3. Caractères d'identifications.....	12
a. Caractères cultureux	12
b. Caractères morphologiques.....	13
c. Caractères physio-biochimiques	14
d. Caractères génomiques.	14
1.1.4. Physiopathologie des infections à <i>S. aureus</i>	14
a. Facteurs de virulence et pouvoir pathogène.....	15

b. Les protéines de surface ou facteurs d'adhérences.....	17
c. Les facteurs de virulence solubles.....	17
1.1.5. <i>S. aureus</i> et la résistance aux antibiotiques.....	17
1.1.6. Action des huiles essentielles sur les <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2. Les bactéries à Gram négatif	19
2.1. <i>E. coli</i>	19
2.1.1. Taxonomie.....	19
2.1.2. Habitat.....	20
2.1.3. Caractères d'identifications.....	20
a. Caractères culturels et morphologique.....	20
b. Caractères biochimiques.....	20
2.1.4. Facteurs de virulence.....	21
2.1.5. Résistance aux antibiotiques.....	21
2.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	21
2.2.1. Habitat.....	21
2.2.2. caractères bactériologiques.....	22
2.2.3. pouvoir pathogène.....	22
2.3. <i>Enterobacter cloacae</i>	22
2.3.1 Habitat.....	22
2.3.2. caractères bactériologiques.....	22
2.3.3. pouvoir pathogène.....	23
2.4. <i>Raoultella ornithinolytica</i>	23
2.4.1. habitat.....	23
2.4.2. caractères bactériologiques.....	23
2.4.3. pouvoir pathogène.....	23

Partie 2 : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Objectifs.....	25
2. Cadre d'étude.....	25
3. Matériel végétal.....	25
3.1. Origine et période de récolte de <i>Lavandula angustifolia</i>	25
3.2. Méthode d'extraction.....	26
3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue.....	27
3.4. Détermination du rendement d'extraction.....	27
4. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	27
4.1. Origine et choix des souches bactériennes.....	27

4.2. Milieux de purification et de revivification.....	28
4.3. Préparation de l'inoculum.....	28
4.4. Conservation des souches.....	28
4.5. Aromatogramme.....	28

Chapitre II : Résultats et discussions

1. Résultats	31
1.1. Rendement en huile essentielle	31
1.2. Résultats de la revivification de la pureté des souches	32
1.3. Identification des souches	32
1.3.1. L'étude macroscopique.....	32
1.3.2. L'étude microscopique.....	33
1.4. L'Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile essentielle	33
Conclusion.....	39

Références bibliographiques

Liste des abréviations

<i>L.angustifolia</i>	<i>Lavandula angustifolia</i>
HE	Huile essentiel
G + C %	Le pourcentage en guanine et cytosine
SCN	Streptocoque a coagulase négative
SCP	Streptocoque a coagulase positive
CBA	Colombia blood agar
TSA	Tryptic soy agar
BHI	Brain heart infusion
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
MSA	Mannitol-Salt-Agar
mm	Millimètres
NaCl	Chlorure de sodium
µl	Microlitre
°C	Degré Celsius
%	Pourcentage
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SARV	<i>S. aureus</i> ne répondant pas au traitement de vancomycine
CMI	Concentration minimale inhibitrice
Um	Micrometre
IgG	Immunoglobulines G
VISA	Vancomycinintermediate <i>S. aureus</i>
GISA	Glycopeptide-intermédiaire <i>S. aureus</i>
Rd	Le rendement en huile essentielle
M'	La masse de l'huile essentielle obtenue après extraction
M	La masse de la matière végétale
MH	Mueller Hinton
(-)	Négatif
(+)	Positif
BLSE	Betalactamases à spectre élargie

Liste des figures

N°	Titres	Pages
01	differentes fractions de <i>Lavandula angustifolia</i>	04
02	La distillation par entrainement à la vapeur d'eau	09
03	Montage d'hydrodistillation	09
04	A : <i>S. aureus</i> vue en microscopie optique après coloration de Gram (X 1000), B : <i>S. aureus</i> vue en microscopie électronique (X 3025)	13
05	Facteurs de virulence chez <i>Staphylococcus aureus</i>	16
06	Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne	19
07	feuilles de <i>Lavandula angustifolia</i>	25
08	un hydrodistillateur de type Clevenger	26
09	L'huile essentielle extraite	31
10	Aspects des colonies sur les deux milieux de culture sélectifs	32
11	Aspect de coloration de Gram. : <i>Staphylococcus aureus</i> (A) et <i>E. coli</i> (B)	33
12	: photos des résultats d'aromatogramme de quelque souche testée (Gram -)	36
13	Résultats d'aromatogramme des souches Gram positif	36
14	histogramme des zones d'inhibitions des souches Gram négatif	37
15	histogramme des zones d'inhibitions des souches Gram positif	37

Liste des tableaux

N°	Titres	Pages
01	la classification de staphylococcus	12
02	La classification d' <i>Escherichia coli</i>	20
03	Caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i>	21
04	Les souches bactériennes testées.	27
05	Rendement d'huile essentielle de <i>Lavandula angustifolia</i>	32
06	études de caractères morphologiques des souches	33
07	Diamètres d'inhibitions pour les bactéries Gram négatifs testées	34
08	Diamètres d'inhibitions pour les bactéries Gram positifs testées	34

Introduction

Introduction

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (O.M.S, 2002). Des avantages économiques considérables dans le développement de cette médecine et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (Muthu *et al.*, 2006).

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une véritable source de molécules chimiques, (Benayad, 2008). Elles synthétisent des molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle, les huiles essentielles connues depuis longtemps pour leurs activités antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire (Rhayour, 2002).

Dans le réservoir chimique des plantes, les huiles essentielles représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans la pharmacologie car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes. En cosmétologie, comme base de fabrication de parfum et de produits dermatologiques. En agroalimentaire pour rehausser le goût, parfumer et colorer les aliments et leur conservation. (Bouzouita *et al.*, 2008).

Les huiles essentielles ont un spectre d'activité très large due principalement à leur grande affinité grâce à leurs natures chimiques, pour cela, les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux. (Bouzouita *et al.*, 2008).

Ainsi plusieurs études visant à démontrer l'activité antibactériennes des huiles essentielles ont été réalisées, (Tabanca *et al.*, 2001 ; Sahine *et al.* , 2004 ; Bendahou *et al.*, 2008). L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles semble d'autant plus intéressante que la flore algérienne est extrêmement riche en plantes aromatiques.

Comme on peut le constater, la recherche de substances naturelles à activité antibactérienne issue de plantes constitue un enjeu scientifique important. C'est dans ce cadre qu'une étude des huiles essentielles d'une plante médicinale *Lavandula angustifolia* issue de la médecine traditionnelle Algérienne a été entreprise. L'intérêt de cette plante pour la médecine est la recherche de nouvelles molécules, réside dans le fait qu'elle est largement utilisée par la population Algérienne pour le traitement de nombreuses maladies infectieuses. (Daouda, 2015)

L'objectif général de ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne des huiles essentielles sur des souches pathogènes multi résistantes issues de prélèvements hospitaliers.

Ce travail a pour objet l'extraction et l'activité antibactérienne des huiles

essentielles d'une espèce appartenant à la famille des Lamiacées représentée lavande *Lavandula*.

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties ; La première partie est une synthèse bibliographique. Elle est divisée en deux chapitres ; le premier chapitre est consacré à la monographie de l'espèce végétale étudiée et propriétés des composés majoritaires. Le second traite les bactéries pathogènes multi résistantes d'origine hospitalière. Dans la deuxième partie du manuscrit présentera le matériel et les méthodes utilisés, notamment l'extraction des huiles essentielles et l'étude de leur activité antibactérienne. Terminera cette deuxième partie par les résultats obtenus, suivis de la discussion puis la conclusion et les perspectives feront l'objet de la troisième et la quatrième partie, respectivement.

Partie 01 :

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01

Lavandula angustifolia et les huiles essentielles

1. *Lavandula angustifolia*

1.1. Etude botanique

Noms vulgaires : Lavande vraie, Lavande officinale, Lavande fine, Lavande commune, Lavande femelle, Nard d'Italie, Faux Nard, Garde robes.

Les diverses formes qui sont réunies sous ce nom sont des sous arbrisseaux de 20 à 80 cm croissant en masse. La racine est pivotante et il y en a quelques unes traçantes. Les tiges ont une longueur qui varie de 15 à 20 cm et sont longuement dépourvues de feuilles au dessous des inflorescences. La plante se compose de hampes florales courtes et fines ne portant qu'un seul épi. (BOTINEAU M., 2010)

Les feuilles sont étroites ou ovales, longues de 2 à 5 cm Les bractées sont d'un brun jaunâtre, marquées de 5 à 7 nervures principales très distinctes, dont le contour est triangulaire, se détachant facilement de l'axe de l'épi. Les fleurs sont courtement pédonculées et disposées en épis de six ou dix groupes dont les plus inférieurs sont séparés des supérieurs. Elles sont portées par des bractées aussi larges que longues Le calice est brièvement cotonneux. On observe la présence de quatre étamines didynames surmontées d'anthères ovoïdes. (BOTINEAU M., 2010)

1.2 Taxonomie

cette plante est classé suivant la classification classique selon (DUPONT et al. 2007).

L'embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous- classe	<i>Asteridées</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiacées</i>
Genre	<i>lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula angustifolia</i>

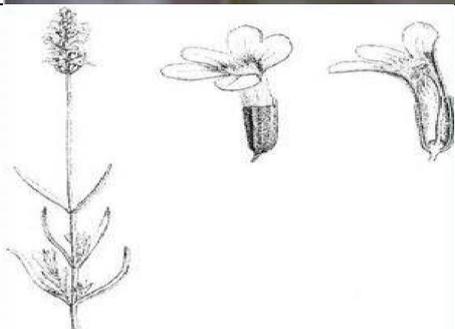
Figure	Titre et reference
	<p>Tétrakène de Lavande officinale (BOTINEAU M.,2010)</p>
	<p><i>Lavandula angustifolia</i> : rameau florifère, fleur entière et en coupe longitudinale (BOTINEAU M.,2010)</p>
	<p>Feuilles de <i>Lavandula angustifolia</i> (BOTINEAU M., 2010)</p>
	<p><i>Lavandula angustifolia</i> (BOTINEAU M.,2010)</p>

Figure 01 : différentes fractions de *Lavandula angustifolia*

d'asthme, notamment quand il est provoqué par la nervosité

- **Huile essentielle** : précieux remède de premier secours, elle est antiseptique, accélère la guérison des brûlures et des plaies, calme les inflammations dues aux piqûres d'insectes. On l'utilise pour traiter la gale et les poux. Pour soulager les maux de tête, se masser les tempes avec quelques gouttes d'essence. (Dufaut, 2010) Pour se détendre, tonifier le système nerveux et retrouver le sommeil, ajouter 05 gouttes d'essence de lavande dans L'extrait de lavande administré à des rats empêchait la démence causée par la maladie d'Alzheimer et une étude cytotoxique de ses effets sur le cancer du poumon montrait l'inhibition de la croissance des cellules cancérogènes (Prusinowska et al., 2014)

2. Les huiles essentielles

2.1. Définition

les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommés qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid, comme les agrumes. De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou microondes (Daouda, 2015).

2.2. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : Il y a environ 500000 plantes sur terre ; 10000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus...) et bien que cela soit moins habituel, dans les écorces (cannelier), le bois (bois de rose...), des racines (vétiver), des rhizomes (gingembre), des fruits (badiane), des graines (anis, muscade), (Bruneton, 1999). Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans les cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouverte d'une cuticule,

(Teuscher *et al.*, 2005).

2.3. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

- **La température:** obligation de stockage à basse température (entre 8 °C et 25 °C).
- **La lumière:** stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence
- **L'oxygène:** les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants. La durée de conservation admise est de 2 à 5 ans. (**Hadjadj R .,et Abikchi Z., 2018**)

2.4. Composition et Propriétés physicochimique

Les huiles essentielles ont une composition assez complexe, contenant de nombreuses espèces chimiques (**Degryse *et al.*, 2008**).

*Les Terpénoides

Les terpénoides sont les plus volatiles ils ont la masse moléculaire la moins élevée on distingue les monoterpènes et les sesquiterpènes. Porteur de fonctions dans le degré d'oxydation est variable, ils donnent naissance à des milliers de substances différentes, (**Wichtl et Anton, 1999**).

*Les Monoterpènes

Ils sont cycliques ou monocycliques ou bicycliques, ils contribuent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (**Bruneton, 1993**).

*Les sesquiterpènes

L'allongement de la chaîne accroît le nombre de cyclisation possibles. Ainsi, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits (**Couderc, 2001**).

- ❖ En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (**Bruneton, 1993**), Les principales caractéristiques sont :
 - ❖ Liquides à température ambiante.
 - ❖ N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
 - ❖ Volatiles et très rarement colorées.
 - ❖ Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en mono terpènes

- ❖ Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en mono terpènes et endérivés oxygénés. Une forte teneur en mono terpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse
- ❖ Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- ❖ Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques
- ❖ Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité **(Zabeirou et Hachimou, 2005)**

2.5. Methodes de conservation des huiles essentielles

On peut conserver les huiles essentielles de bonne qualité plusieurs années sous certaines conditions. D'abord, il ne faut pas les exposer à la lumière en les stockant dans des flacons en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu), à une température ambiante jusque vingt degrés et loin des sources de chaleur. Vu que les HE sont volatiles, il est possible qu'elles s'évaporent dans l'atmosphère et perdent progressivement leurs propriétés et leur arôme, il faut donc bien refermer les flacons après usage. Les flacons doivent être stockés en position verticale, car le bouchon risque d'être attaqué par l'huile en position horizontale (les huiles essentielles ont une action corrosive sur le plastique) **(Lardry et Haberkorn, 2007)**.

2.6. Les effets biologiques des HEs

Les plantes synthétisent des molécules capables d'être la fois antimicrobienne et anti inflammatoire par divers mode d'action ; elles élaborent des essences contenant à la fois des molécules antibactérienne , mucolytique et expectorante dans les cas des infections des voies respiratoire .L'utilisation des huiles essentiels est importants dans le traitements des pathologies infectieuses ,affections urinaires , systèmes respiratoires ,gastro intestinal et biliaire **(Rios et Recio ,2005)**

Les huiles essentiels de certain plantes medicinales sont utilisés pour traiter l'acné et autres infections dermiques **(Vanaclocha et Canigueral, 2003)**

2.7. Methodes d'extractions

L'extraction des produits bioactifs, ainsi que les HEs peut être réalisée au moyen de nombreux et divers procédés

2.7.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. L'huile est entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation

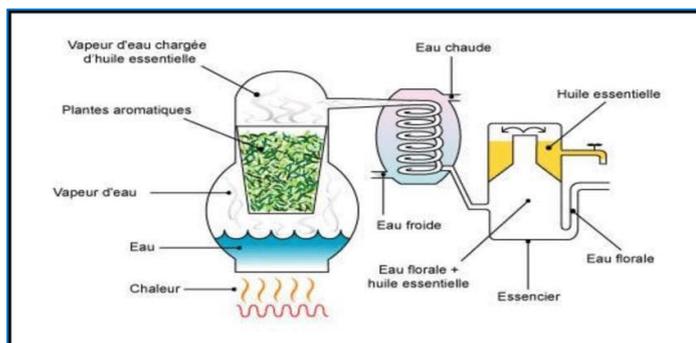


Figure 02: La distillation par entraînement à la vapeur d'eau.(Charik S et Kadri Y. 2020)

2.7.2. Hydrodistillation

C'est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles se séparent de l'eau par différence de densité.

Cette méthode est généralement utilisée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées.

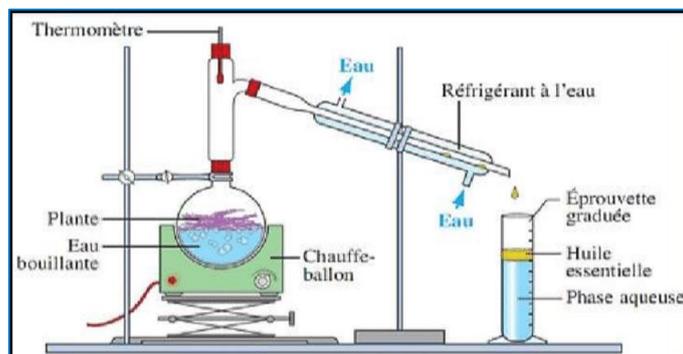


Figure 3 : Montage d'hydrodistillation(Charik S. et Kadri Y, 2020.)

2.7.3.Extraction par expression

C'est une technique simple où le matériel végétal est pressé mécaniquement à froid pour extraire son huile essentielle. Cette méthode est essentiellement utilisée pour recueillir les huiles essentielles des épicarpes frais des Citrus (citrons, oranges, mandarines et pamplemousses). Dans l'industrie, les zestes sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices est récupéré par expression manuelle ou à l'aide de machines qui rompent les poches par expression et recueillent directement l'huile essentielle (**Bruneton, 1999**).

2.7.4. Expression à froid

L'expression à froid est une extraction sans chauffage réservée aux agrumes. Le principe de ce procédé mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en huiles essentielles. L'huile essentielle ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau. Une émulsion constituée d'eau et d'essence se forme. L'essence est alors isolée par décantation (**Kimball, 1999; Ferhat, 2007**).

Cette technique permet l'expression à froid de l'huile essentielle des agrumes sans emploi d'eau, ce qui évite ainsi des altérations telles les hydrolyses ou les solubilisations de certaines classes de composés aromatiques (**Martini, 1999**)

chapitre 02

Les bactéries pathogènes multirésistantes

1. Les bactéries pathogènes à Gram positif

1.1. *Staphylococcus aureus*

C'est un agent pathogène important à la fois dans les milieux sanitaires et communautaires, provoque un large éventail de maladies allant des infections de la peau et des tissus mous à des maladies invasives telles que la pneumonie, la septicémie, l'ostéomyélite et l'endocardite. Avant l'arrivée des antibiotiques, les infections causées par le *S. aureus* étaient une cause fréquente de morbidité et de mortalité. Au début des années 1960 en Europe, le staphylocoque est devenu résistant aux pénicillines semi-synthétiques (la méthicilline et l'oxacilline). Une multi résistance a été observée comme pour l'érythromycine, la tétracycline et la clindomycine (Cosgrove S *et al.*, 2003). L'abréviation SARM est utilisée pour faire référence aux souches de *S. aureus* qui possèdent une résistance aux antibiotiques énumérés précédemment, dont la méthicilline depuis son apparition au Canada en 1987, le SARM a été reconnu comme un pathogène nosocomiale d'envergure en raison de son importante propagation dans les centres hospitaliers (SARM H). Bien que le SARM soit considéré d'abord et avant tout comme une infection nosocomiale, la littérature de la fin des années 1990 apporte des infections à SARM acquises dans la communauté chez des patients qui n'ont aucun lien avec les milieux de soins, d'où l'expression SARM communautaire ou SARM acquise en communauté (SARM-AC) qui touche souvent le tissu dermique de l'homme et cause plusieurs maladies plus ou moins graves ; citons les furoncles, les impétigos, les cellulites (Cosgrove S. *et al.*, 2003).

1.1.1. Taxonomie

Selon la 9^{ème} édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, l'espèce *Staphylococcus aureus* est classée parmi les Bactéries à Gram positive pauvre en GC% est comprise entre 30 et 39% dans le domaine des bacteria (Touaitia, 2016) (Tableau 1).

Tableau 1 : Taxonomie de l'espèce *Staphylococcus aureus* (Prescott, 2010)

Classification	Nom
Régne	<i>Bacteria</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Division	<i>Firmicute</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>

1.1.2. Habitat

Staphylococcus aureus est un germe ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air et l'eau (Franchere et Avri, 2002). Cette bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez L'homme environ un tiers des sujets porteurs sains, ils hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (principalement les fosses nasales) et les zones cutanées humides (périnée, aisselles) (Nauciel et Vildé, 2005)

1.1.3. Caractères d'identifications

a. Caractères cultureux

Les staphylocoques sont des aéro-anaérobies facultatif et non-exigeants. C'est une bactérie mésophile (37 °C de croissance optimale), neutrophile (pH 7 optimal) et halophile (tolérant vis-à-vis de hautes concentrations en sel, par exemple en bouillon hypersalé à 7% de Na Cl et certaines souches peuvent croître jusqu'à une concentration de 20% de Na Cl). Elle est aussi relativement résistante aux inhibiteurs bactériens comme le cristal violet et le tellurite de potassium (Touaitia, 2016). Certaines espèces du genre *Staphylococcus* sont capables de vivre dans des environnements hostiles (Pellerin *et al.*, 2010).

Elle est facilement cultivable en milieu CBA (Columbia Blood Agar), TSA (Tryptic Soy Agar) ou BHI (Brains Heart infusion) ainsi que dans les milieux liquides correspondants (Vitko, 2013).

En bouillon, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt sont observés, il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide

(**Angandza, 2012**). *S. aureus* peut également être cultivé facilement en 24 heures sur milieu ordinaire (gélose trypticase-soja supplémentée ou non en sang), et aussi cultivée en milieu sélectif hypersalé (Chapman ou MSA pour Mannitol-Salt-Agar), ce qui peut être intéressant pour des recherches ciblées (dépistage) (**Eveillard, 2007**), et utilisée comme milieu pour l'identification de *S. aureus* qui présente un caractère halophile ainsi que la capacité à fermenter le mannitol (**Accarias, 2014**).

S. aureus présente une bonne croissance sur milieux usuels en 18-24 h (dans des températures de 7 °C à 48.5 °C avec un optimal de 30°C à 37 °C et un pH de 4.2 à 9.3 avec un optimal de 7 à 7.5(**Yves,2009**). Sur milieux solides, les colonies observées après 24 heures d'incubation sur gélose ordinaire sont larges (2-4 mm de diamètre) circulaires, légèrement bombées lisses, luisantes. La pigmentation des colonies peut varier du blanc au jaune ou jaune orangé (**Flandrois et al., 1997**). Les colonies sont souvent bêta-hémolytiques sur gélose au sang. De rares souches capsulées produisent des colonies d'aspect luisant pouvant devenir coulantes après plusieurs jours de conservation sur milieu gélose. (**Buckingham et al., 2004**).

b. Caractères morphologiques

S. aureus sont des cocci à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques, en courtes chainettes ou en amas, ayant la forme de grappe de raisin, immobiles, non sporulés mais parfois encapsulés. Ils mesurent 0,8 à 1µm de diamètre.

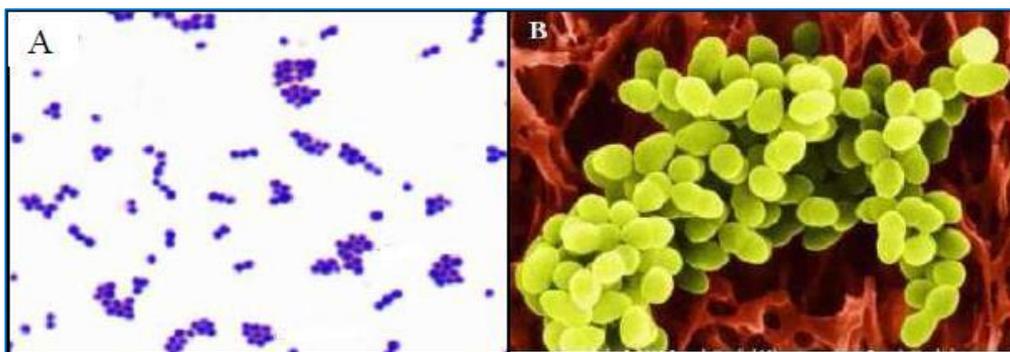


Figure 04: A : *S. aureus* vue en microscopie optique après coloration de Gram (X 1000),
B : *S. aureus* vue en microscopie électronique (X 3025) (in Al alam, 2008).

c. Caractères physio-biochimiques

Staphylococcus aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Ces bactéries possèdent une activité de catalase, coagulase, phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase. Elles sont hémolytiques, ont la capacité de liquéfier la gélatine et de fermenter de nombreux sucres comme le glucose, le saccharose, le lactose et le mannitol. Le diagnostic permettant de distinguer *S. aureus* des autres espèces est basé sur des tests réalisés sur colonies tels que l'identification du facteur agglomérant, de la coagulase, des hémolysines et de la désoxyribonucléase thermostable ou thermo nucléase (Accarias, 2014).

d. Caractères génomiques

Le génome de *S. aureus* est constitué d'un chromosome circulaire unique d'environ 2,8 Mb à faible teneur en guanidine et cytosine (30 à 39 %) (Accarias, 2014). Ce génome est formé de deux domaines fonctionnels distincts. La majeure partie du chromosome (75%) appelé « core » contient les gènes qui assurent le métabolisme de la bactérie. La deuxième partie du génome (environ 25%) est constituée d'éléments génétiques accessoires et mobiles comme des plasmides (Géraldine, 2009), transposons, prophages ou des îlots de pathogénicité portant la plupart des gènes associés à des facteurs de virulence et à la résistance aux antibiotiques (Issarte *et al.*, 2005)

1.1.4. Physiopathologie des infections à *S. aureus*

S. aureus est une bactérie opportuniste, commensale de la peau et des muqueuses (fosses nasales, tractus gastro-intestinal et pharynx) de l'homme et de nombreuses espèces animales (Van Belkum *et al.*, 2006). Dans une moindre mesure, elle peut coloniser également le périnée et les muqueuses vaginales (Guinan *et al.*, 1982) et les aisselles (Dancer et Noble, 1991). Bien qu'étant commensal, *S. aureus* est également responsable d'un grand nombre d'infections chez l'Homme, notamment des infections cutanées (impétigos, folliculites, furoncles, panaris) et des infections des muqueuses (conjonctivites, otites, salpingites, endométrites, pneumonies) (Lowy, 1998). Ces infections peuvent mener à des bactériémies et faire l'objet de métastases septiques à

l'origine de foyers infectieux profonds. Dans 10 % des bactériémies, une endocardite survient comme complication (**Pilly, 2008**).

La porte d'entrée principale de *S. aureus* est cutanée, comme peuvent l'être une plaie ou le point de pénétration d'un cathéter. *S. aureus* possède de nombreux facteurs de virulence et de pathogénicité (facteurs d'adhésion, toxines, enzymes) et exerce son pouvoir pathogène par la libération d'une ou de plusieurs toxines. Parmi les toxines, les entérotoxines libérées par la bactérie sont responsables de toxi-infections alimentaires. La production de la toxine à l'origine du syndrome de choc toxique staphylococcique est plus rare. Enfin, la leucocidine de Pantan-Valentine est une toxine qui crée des pores dans la membrane des cellules et est associée à des infections cutanées. Son rôle dans les maladies invasives n'est cependant pas encore clairement établi (**Shallcross, 2013**).

a. Facteurs de virulence et pouvoir pathogène

S. aureus colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire (**Figure2**). Il exerce ensuite son pouvoir pathogène qui est dû, à la synthèse de multiples facteurs de virulence. Elle se lie aux sites de lésions où s'accumulent les plaquettes et les fibrines (PFT). Après phagocytose par les cellules endothéliales. *S. aureus* secrète des enzymes protéolytiques qui vont faciliter la diffusion dans les tissus adjacents et le relargage de *S. aureus* dans le système vasculaire. Après phagocytose, les cellules endothéliales expriment des récepteurs Fc et des molécules d'adhésion et relarguent de l'IL-1, IL-6 et IL-8. Les leucocytes adhèrent aux cellules endothéliales, les macrophages et monocytes relarguent de l'IL-1, IL-6, IL-8 et TNF-alpha après phagocytose de *S. aureus*.

Les facteurs de virulence sont de deux types : les protéines de surface et les facteurs de virulence solubles :

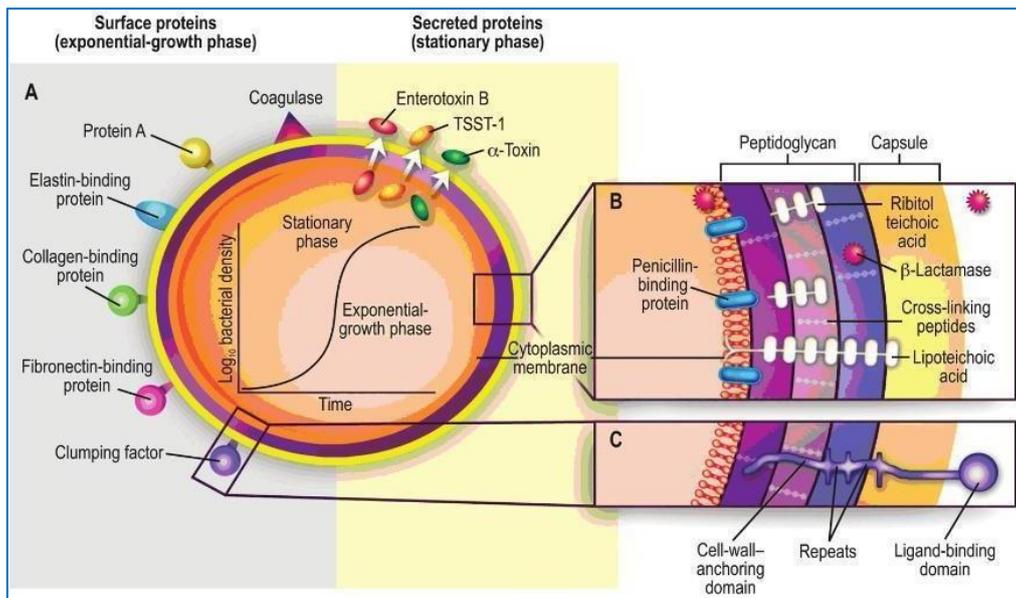


Figure 05: Facteurs de virulence chez *Staphylococcus aureus* (Al alam, 2008).

b. Les protéines de surface ou facteurs d'adhérences

Elles sont en majorité ancrées aux Peptidoglycanes de la paroi bactérienne, et vont permettre la fixation de *S. aureus* aux cellules. Cinq groupes de protéines de surface ont été caractérisés au niveau moléculaire :

- Spa (protéine A)
 - Cna (protéine de liaison au collagène),
 - FnBP (protéine de liaison à la fibronectine)
 - Clf (protéine de liaison au fibrinogène)
 - EbpS (protéine de liaison à l'élastine)
- ✓ **La Protéine A (Spa pour staphylococcal protein A):** Classiquement connue pour être une protéine liant le fragment Fc des immunoglobulines G (IgG). C'est un facteur primordial à l'établissement des infections endovasculaires.
 - ✓ **La protéine de liaison au collagène de type I, II et IV:** Cette adhésine joue un rôle très important dans les infections ostéo-articulaires.
 - ✓ **La protéine de liaison à la fibronectine:** Cette protéine contribue à l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques mais aussi aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang. Elle joue un rôle très important dans l'initialisation des infections sur corps étrangers.

- ✓ **Les protéines de liaison au fibrinogène:** Clumping factor (ClfA, ClfB): est un récepteur pour le fibrinogène qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. Cette adhésine joue un rôle dans les infections des plaies et les infections sur corps étranger.
 - ✓ **La protéine de liaison à l'élastine (EbpS):** une protéine transmembranaire de 25 kDa associée à la surface cellulaire. Elle se lie à la région N terminale de l'élastine qui est une région toujours libre
- c. **Les facteurs de virulence solubles:** pratiquement toutes les souches de *S. aureus* sont capables de sécréter, au cours de la phase stationnaire de croissance, un groupe d'enzymes et d'exotoxines, comprenant quatre hémolysines (alpha, bêta, gamma et delta), des nucléases, des protéases, des lipases, une hyaluronidase et une collagénase. En plus de ces protéines, certaines souches produisent une ou plusieurs exotoxines qui ciblent spécifiquement les molécules d'adhésion cellulaires et le système immunitaire hôte

1.1.5. *S. aureus* et la résistance aux antibiotiques

Une étude est réalisée aux États-Unis a montré que les *S. aureus* étaient à l'origine de 50 % des infections nosocomiales dans les hôpitaux ; ce qui prouve qu'ils ont acquièrent une résistance via les antibiotiques.

- a. **SARM :** Le SARM signifie *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. Généralement, les infections du SARM ne se développent pas chez les personnes en bonne santé. Elles sont plus courantes chez celles qui sont déjà hospitalisées car la bactérie trouve souvent un point d'entrée dans le corps, tel qu'une plaie chirurgicale ou un tube intraveineux. La prévalence des SARM dans le monde est très hétérogène et variable : elle varie avec les pays et les régions, avec la période d'étude, les services et les conditions de vie des populations concernées (Touaitia, 2016).
- b. **SARV :** Les souches de *S. aureus* ne répondant pas au traitement de vancomycine ont une sensibilité diminuée à cet antibiotique, une concentration minimale inhibitrice (CMI) envers la vancomycine comprise entre 4 et 16

µg/ml définit une souche de sensibilité diminuée ou intermédiaire. Ces microorganismes sont dénommés **VISA** pour « vancomycin- intermédiaire *S. aureus* », ou plus généralement **GISA**, « glycopeptide-intermédiaire *S. aureus* », étant également résistants à la teicoplanine (CMI = 16 µg/ml). Les souches de *S. aureus* sensibles à la vancomycine ont des CMI inférieures ou égales à 4 µg/ml, alors que celles dont les CMI sont égales ou supérieures à 32 µg/ml sont définies comme résistantes. (**Crossley KB, 2010**).

1.1.6 Action des huiles essentielles sur les *Staphylococcus aureus*

Plusieurs théories sont proposées pour expliquer le mécanisme par lequel les HEs exercent leur activité antibactérienne. La composition complexe des HEs tend à prouver que cette activité serait due à plusieurs mécanismes d'action différents, liés à la nature chimique de ces composés (**Burt, 2004**).

L'action des HEs dépend aussi de la nature des microorganismes ciblés. Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des HEs, par rapport aux bactéries à Gram négatif. Cela peut être expliqué par la présence de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif, elle représente en effet une barrière capable de diminuer la perméabilité des composés hydrophobes (**Calsamiglia et al., 2007**).

Le LPS confère à la paroi cellulaire un caractère hydrophile qui rend la membrane externe des bactéries gram négatives imperméables à la plupart des constituants hydrophobes des huiles essentielles (**Saei-Dehkordi S. et al., 2010**)

Les huiles essentielles peuvent altérer directement la membrane cellulaire des bactéries gram positives, induisant la rupture de celle-ci, le blocage enzymatique et la perturbation de la perméabilité membranaire (**Sandri I.G et al ,2007**)

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**)

Les huiles essentielles ont un très large spectre d'inhibition comprenant des bactéries à gram positive et à gram négative (**Remmal et al., 1993**) les localisations ainsi

que les sites d'action des composants des huiles essentielles dans la cellule bactérienne sont indiqué dans la **figures 06**

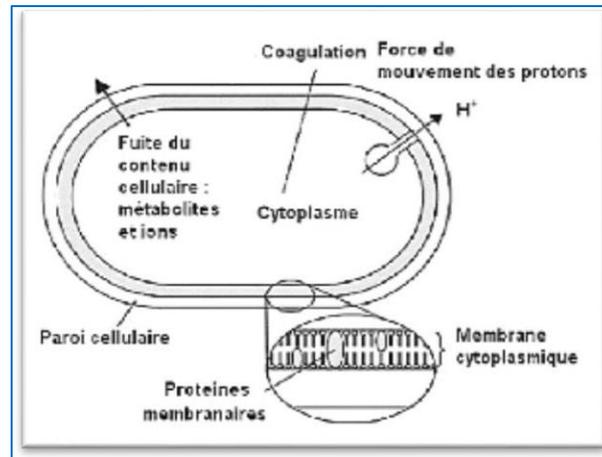


Figure 06 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt,2004)

2. Les bactéries pathogènes à Gram négatif

2.1. *Escherichia coli* (*E. coli*)

C'est un micro-organisme qui s'installe dans l'intestin des nouveau-nés rapidement après la naissance ; pendant un certain temps, elle constitue l'élément dominant de leur flore intestinale et elle reste présente chez l'adulte. (Haouzi, 2013)

Cependant, certaines souches d'*Escherichia coli* peuvent être pathogènes entraînant alors des gastroentérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies. (Cristian, 2008)

2.1.1. Taxonomie

C'est un germe très courant. Il existe au sein du genre *Escherichia* cinq autres espèces : *E. albertii*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris* (Charlotte, 2017)

Tableau 02: La classification d'*Escherichia coli* (Bergey's manual, 2012)

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli (E.coli)</i>

2.1.2. Habitat

E. coli est un hôte normal du tube digestif de l'Homme. L'appellation commune *coli* bacille est une contraction de « bacille du côlon » rappelant son caractère de bactérie commensale du tube digestif. Chaque personne porte dans son tractus intestinale une population d'*E. coli* et se trouve fatalement dans les égouts. Cette bactérie est également présente au niveau du revêtement cutané-muqueux, à proximité des orifices naturels. (Prodhomme, 2008).

2.1.3. Caractères d'identifications

a. caractères culturels et morphologiques

E. coli sont des Bacilles mobiles Aéro-anaérobies facultatifs, Culture facile sur milieux ordinaires, lactosés. Sur milieux solides après 18-24h ; les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre. Pousse sur milieux sélectifs type Mac Conkey. (Danielle, 2015)

b. Caractères biochimiques

E. coli possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent

l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille. (Hadjer M, 2018).

Tableau 03 : Caractères biochimiques d'*Escherichia coli*

Test	GLU	LAC	H2S	GAZ	ODC	ADH	MAL	URE	TDA
Résultat	+	+	+	+	+/-	+/-	-	-	-

2.1.4. Facteurs de virulences

Pouvoir pathogène d'*E. coli* est lié aux facteurs de virulence potentiels, Les facteurs d'adhésion. Elle est responsable de 80 % des infections urinaires primitives (Danielle, 2015). Il existe différents facteurs de pathogénicité chez *E. coli*.

2.1.5. Résistance aux antibiotiques

E. coli était sensible à plusieurs antibiotiques comme céfazoline, céftriaxone, cefixitine...mais l'acquisition de la résistance à un large spectre d'antibiotiques est très fréquente surtout en milieu hospitalier. *E. coli* sont naturellement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram- comme les aminosides et les fluoroquinolones. Elle est une entérobactérie comme toutes les entérobactéries qui présente une résistance naturelle aux glycopeptides et à la pénicilline G. Elles sont naturellement sensibles à l'ensemble des bêtalactamines (Saidani, 2012).

2.2. *Klebsiella* : Bacille à Gram négatif de la famille des entérobactéries. Plusieurs espèces : *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozaena*....

2.2.1. Habitat

K. pneumoniae subsp : *pneumoniae* est une espèce isolée dans l'environnement à partir d'échantillons de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées, de végétaux , et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale . Chez l'homme, cette espèce végète sur la peau, les muqueuses, les voies respiratoires supérieures et elle est isolée des selles chez 30 % des individus. Pour ce qui est des infections nosocomiales, le tube digestif des

patients hospitalisés et les mains du personnel sont les deux sources principales. (Belbel Z., 2014)

2.2.2. Caractères bactériologiques

Les Klebsiella sont des bacilles à Gram négatif de 0.5 µm sur 3 µm environ, à extrémités arrondies, se présentant de manière isolée, groupés en diplobacilles ou en courtes chaînettes souvent enrobés dans la même capsule. Cette bactérie se distingue par son immobilité constante, elle est asporogène, capsulée mais cette dernière peut être absente chez 5% des souches. (Belbel Z., 2014)

2.2.3. Pouvoir pathogène

K. pneumoniae subsp. pneumoniae est un pathogène opportuniste responsable d'infections communautaires et d'infections nosocomiales. Parmi les infections communautaires, *K. pneumoniae* est responsable d'infections broncho pulmonaires incluant les pneumonies lobaires nécrosantes, les abcès pulmonaires, les pleurésies purulentes. Cette espèce est également responsable d'infections intra-abdominales et est isolée de mal perforant plantaire. *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* est surtout actuellement un agent d'infections nosocomiales, responsable d'infections urinaires sur sonde, de bactériémies de pneumonies, d'infections de sites opératoires et d'infections néonatales (Belbel Z., 2014).

2.3. *Enterobacter cloacae*

2.3.1. Habitat

Bactéries telluriques, elles sont fréquemment retrouvées dans les eaux de surface, le sol et les végétaux. Elles sont susceptibles de se développer à basse température et d'acquérir, en particulier l'espèce *cloacae*, elle possède une résistance importante aux agents antibactériens (Lefrère, 2000).

2.3.2. Caractère bactériologique

Les *E. cloacae* sont des bacilles à Gram négatif appartenant à la famille des *Entérobactériaceae* qui constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. (Joly et Reynaud, 2007). Sur gélose nutritive, *E. cloacae* forme des colonies rondes avec un diamètre de 2 à 3 mm, légèrement plates avec des bords irréguliers (Grimont et Grimont, 2006).

2.3.3. Pouvoir pathogène

E. cloacae est fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales et colonise généralement la flore intestinale endogène des patients hospitalisés, mais peut également se trouver comme source d'épidémie ou de transmission de patient à patient. Les infections surviennent principalement chez des patients ayant reçu un traitement d'antibiotique ainsi que ceux en unités de soins intensifs (Qureshi *et al.*, 2011). Enterobacter est une bactérie pathogène opportuniste responsable en milieu hospitalier d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses (Ibadene *et al.*, 2010).

2.4. *Raoultella ornithinolytica*

2.4.1. Habitat

R. ornithinolytica est une bactérie de l'environnement qui a été isolée à partir d'insectes, de poissons et d'eau saumâtre (Henriques *et al.*, 2006)

2.4.2. caractère bactériologique

Les *Raoultella ornithinolytica* sont des bacilles Gram négatif, anaérobies facultatives, encapsulées, non mobiles et non sporulées. Elle possède un diamètre de 0,3 à 0,4 µm et une longueur de 3,0 à 6,0 µm. Elles sont capables de croître sur gélose à une température optimale de 37 °C mais aussi à 41 °C. Ces bactéries sont positives au test Voges-Proskauer (VP+), oxydase (+) et catalase (-). Elles sont capables de produire de l'histamine. (Georges A. *et al.*, 2020)

2.4.3. Pouvoir pathogène

Cette bactérie, ainsi que les espèces étroitement apparentées (*R. planticola*) a été démontrée comme agent causal d'une réaction anaphylactique (également connu sous le nom de syndrome scombroïde) liée à l'ingestion de poisson fortement chargé en histamine. La toxicité de l'histamine résulte de l'expression de l'enzyme histidine décarboxylase qui permet à la bactérie de convertir l'histidine en histamine qui s'accumule en grande quantité dans les muscles du poisson. Ce processus qui peut être contrôlé par une conservation à basse température des aliments. Les symptômes sont retrouvés après l'ingestion de poisson et se manifestent par des bouffées de chaleur, prurit, céphalées et douleurs abdominales. La durée d'incubation varie de 1 minute à 3 heures et les symptômes se résolvent spontanément en quelques heures.

R. ornithinolytica provoque de rare gastro-entérite aiguë fébrile associée à une bactériémie. Ces signes cliniques peuvent être indiscernables de la fièvre typhoïde causée principalement par *Salmonella Typhi*. Ainsi *R. ornithinolytica* devrait être incluse dans son diagnostic différentiel (Morais VP et al ., 2009).

Partie 02:

Matériel Et Méthodes Expérimentales

1. Objectifs

Notre travail expérimental a été réalisé au laboratoire de Microbiologie de l'université LarbiTébessi de Tébessa. Cette étude consiste à :

- Tester l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* sur des bactéries pathogènes multirésistantes à Gram positif et à Gram négatif.

2. Cadre d'étude

Ce travail représente une étude prospective, portant sur 04 souches de *S. aureus* et 05 souches des entérobactéries (**Tableau 02**) issues de prélèvements cliniques de la ville de Tébessa, pour tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *L. angustifolia*. Ce travail a été réalisé au cour d'une période de 03 mois allant de décembre 2021 jusqu'à février 2022, au laboratoire de Microbiologie de l'université Larbi Tébessi.

3. Matériel végétal

3.1. Origine et période de récolte de *Lavandula angustifolia*

Les feuilles de *L. angustifolia* proviennent de la région de la wilaya Tebessa (Tebessa ville).La récolte était entreprise manuellement dont la plante était en floraison durant le mois de Decembre 2021 .Les feuilles récoltées sont séchées à l'abri de la lumière et à la température ambiante. Seule la partie aérienne (feuilleet tige) est utilisée pour l'obtention des huiles essentielles. (**Figure 7**)

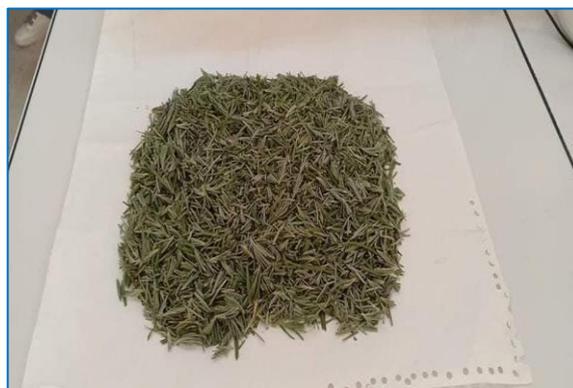


Figure 07 : feuilles de *Lavande angustifolia*

3.2. Méthode d'extraction

a- principe

L'extraction de l'huile essentielle (HE) des feuilles de *L. angustifolia* a été faite par un hydro distillateur de type Clevenger. Il est constitué d'une chauffe ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation. (figure8)

b- Technique

300g des feuilles de *L. angustifolia* sont mises dans un ballon en verre pyrex, additionnées de 3000ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition, après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur, l'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par un condensateur, fixé par un support approprié en position verticale pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps de cette extraction est d'environ trois heures. Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décanter. Le mélange est laissé au repos quelques minutes, ce qui résulte l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse. En fin, le distillat est recueilli dans un tube à essai et l'huile essentielle des feuilles de *Lavandula angustifolia* sera par la suite récupérée dans un flacon stérile.



Figure 08 : un hydrodistillateur de type Clevenger

3.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables (Burt, 2004). C'est pour cela nous avons conservé l'huile essentielle des feuilles du *Lavandula angustifolia* à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre stérile fermé hermétiquement et couvert avec du papier d'aluminium pour le protéger de l'air et de la lumière.

3.4. Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme (AFNOR, 1986), le rendement en huile essentielle (**Rd**), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (**M'**) et la masse de la matière végétale utilisée (**M**). Il est donné par la formule suivante :

$$\text{Rd} = \text{M}'/\text{M}.100$$

Rd : Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage(%) **M'**: Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme(g)

M: Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme(g)

4. Evaluation de l'activité antibactérienne

4.1. Origine et choix des souches bactériennes

Les souches bactériennes à testées pour cette étude sont des bactéries pathogènes issues (maternité- Khaldi A/aziz)des prélèvements cliniques des différents milieux hospitaliers de la wilaya de Tébessa.

Tableau 04: Les souches bactériennes testées.

Bactéries	Souches	References
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i> 01	S 01 (polyclinique de chirurgie dentaire)
	<i>Staphylococcus aureus</i> 02	S 02 (médecine femme-Bouguerra Boularess)
	<i>Staphylococcus aureus</i> 03	S 03 (maternité- Khaldi A/aziz)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923
	<i>Enterobacter cloacae</i>	S 09 (maternité- Khaldi A/aziz)

Gram négatif	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	S 90 (médecine homme- Tidjani Hadam)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S 95 (Gynecologie- Bouguerra Boularess)
	<i>E. coli 1</i>	S 311(médecine homme- Tidjani Hadam)
	<i>E. coli</i>	ATCC25922

4.2. Milieux de purification et de revivification

La purification se fait par l'ensemencement de ces souches sur des milieux spécifiques :

- Milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus*.
- Milieu Hektoen pour les entérobactéries

La revivification des souches s'effectue sur le milieu bouillon nutritif pendant 24 h pour l'obtention d'une culture jeune.

4.3. Préparation de l'inoculum

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24h) en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches est effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu liquide (BN). Les conditions de stérilisation doivent être respectées, à savoir: ne pas dépasser les 20 cm du bec bunsen et utiliser du matériel stérile(Duraffourd *et al.*, 1990).

4.4. Conservation des souches

Les souches bactériennes ont été conservées à 4°C dans la gélose nutritive inclinée.

4.5. Aromatogramme

C'est la méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. L'activité antibactérienne de l'huile étudiée a été évalué par la méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques) (Hammer *et al.*, 1999)

- a- **Technique:** Un inoculum de chaque souche-test a été préparé à partir d'une culture pure : Une quantité suffisante des souches bactériennes pures ont été récupérées à l'aide d'un écouvillon, avec de l'eau physiologique stérile (9% de NaCl). . La suspension bactérienne a été homogénéisée par une faible agitation manuelle, Cet inoculum ne doit pas être utilisé au dela de 15 minutes. Il sert à

ensemencer par écouvillonnage sur géloses de Mueller Hinton (MH) coulées dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur d'environ 04 mm.

- b- **Préparation des disques** : Habituellement, les disques des antibiotiques sont présentés sous forme des disques de 6 mm de diamètre. Donc, les disques de l'huile présentent ces mêmes conditions. On coupe le papier Wattman en disques de 06 mm. On stérilise les disques par autoclavage pendant 20 min à 120 °C dans une boîte de pétri en verre contenant 10 ml d'eau distillée.

Les disques blancs du papier Wattman de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de l'huile essentielle dans une boîte de pétri stérile près du bec. Puis, sont déposés à l'aide d'une pince stérile sur la gélose MH, préalablement ensemencé, sur lesquelles ont été séchés. Pour déterminer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle. (Gulluce *et al.*, 2003)

- c- **Lecture** : d'après (ponce *et al.*, 2003) La sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible (-) pour les diamètres moins de 8mm.
- Sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14mm.
- Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm.

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Rendement en huile essentielle

L'huile essentielle a été extraite des feuilles et des tiges de *Lavandula angustifolia* par hydrodistillation de type cleverger. On a obtenu une quantité huileuse importante de couleur jaune pâle avec une odeur âcre qui se caractérise par un parfum fort ce qui indique sa richesse en composés aromatiques.



Figure 09 : L'huile essentielle extraite.

Le rendement obtenu est de **5.73%** après trois extractions ; ce rendement est important par rapport au résultats obtenu par (Carrasso et al., 2016) qui a trouvé par (Boughendjioua, 2017) $1,50 \pm 0,2\%$.

Les résultats obtenus par Laib et Barkat (2011) et Mohammadi et al., (2011) indiquent que les fleurs sèches de la lavande provenant de deux régions d'Algérie présentent des teneurs en huile essentielle respectivement 1.36% et 2.01 %. Bouguerra et Zeghou (2009) ont trouvé que les fleurs de *Lavandula angustifolia* collecté du même lieu ont présenté un rendement de 3.41 %. De même, les résultats obtenus par Sidi Boulouar et Ziane (2003) indiquent que les fleurs sèches de la lavande provenant de la région d'Ouchba et Zarifet ont donné des teneurs en huile essentielle équivalentes respectivement à 0.94 % et 0.70 %.

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment le degré de maturité des fleurs de *Lavandula angustifolia*, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), le moment de récolte et la méthode d'extraction (Boughendjioua, 2017).

Tableau 05 : Rendement d'huile essentielle de *Lavandula angustifolia*.

Rendement 1 (%) (première extraction)	Rendement 02 (%) (deuxieme extraction)	La Moyenne (%)
6.96	4.5	5.73

1.2. Résultats de la revivification de la pureté des souches

La revivification de la pureté des souches se fait après 24 heures d'incubation à 37°C, à l'examen macroscopique des colonies bactériennes sur gélose nutritive, et microscopique après coloration de Gram.

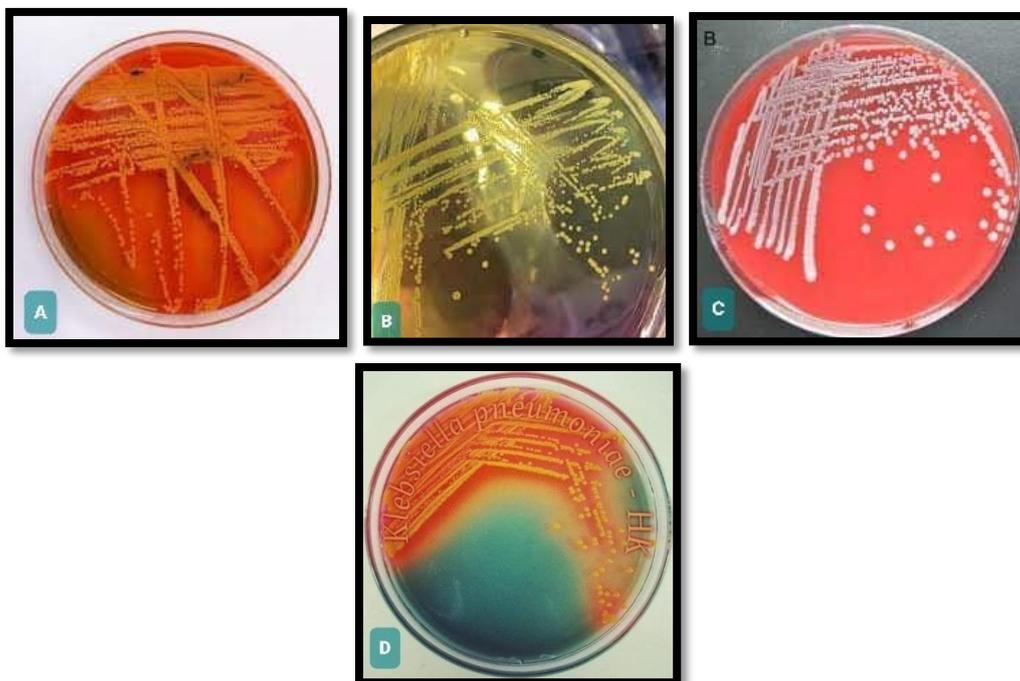


Figure 10 : Aspects des colonies sur les deux milieux de culture sélectifs Hectoen :

(A) : *E. coli* Chapman ; (B) *S. aureus* (C) : *Raoultella ornithinolytica*
(D) : *Klebsiella pneumoniae*

1.3. Identification des souches

1.3.1. L'étude macroscopique

Staphylococcus aureus sur milieu Chapman apparaît de couleur blanchâtre crémeuse avec un virage de couleur vers le jaune orange .

1.3.2. L'étude microscopique

Après la réalisation de coloration de Gram pour les bactéries isolés on a obtenu des cellules colorées en rose c'est le cas des bactéries à Gram négatif et d'autre colorées en violet pour les bactéries à Gram positif. Les observations ont été obtenues avec un grossissement de 100X à l'aide d'objectif à immersion. **(Figure 02)**

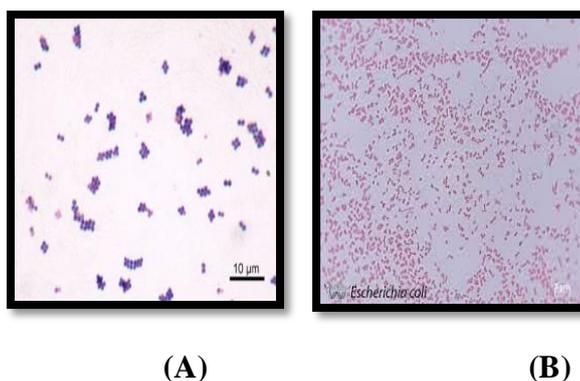


Figure 11 : Aspect de coloration de Gram. : *Staphylococcus aureus* (A) et *E. coli* (B)

Tableau 06 : études de caractères morphologiques des souches.

Souches	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacteries</i>
Forme	Cocci	Baccile
Mobilité	Immobile	Mobile
Gram	Bactérie Gram positive	Bactérie Gram négative

1.4. L'Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile essentielle

L'activité antibactérienne d'huile essentielle de *L. angustifolia* a été évaluée sur des souches pathogènes multi résistantes d'origine hospitalière en utilisant la méthode de diffusion sur disque dans le milieu gélosé. Le pouvoir antibactérien de cette huile essentielle est obtenu par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en (mm) à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats de l'activité antibactérienne des HE de *L. angustifolia*, est présentée dans **les tableaux 07 et 08.**

Tableau 07 : Diamètres d'inhibitions pour les bactéries Gram négatifs testées

Les bactéries Gram négatifs testées		Diametre en mm			
Souches	Espèces	D1	D2	D3	Moyenne
S - R	<i>E. ATCC</i>	31	30	28	29± 66
S09	<i>Enterobacter cloacae</i>	9	8	8	08± 33
S90	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	14	14	14	14 ,00
S95	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	09	14	11,00
S311	<i>E.coli 1</i>	11	09	09	09± 66

Tableau 08 : Diamètres d'inhibitions pour les bactéries Gram positifs testées

Les bactéries Gram positifs testées		Diametre en mm			
Souches	Espèces	D1	D2	D3	Moyenne
S - R	<i>S. ATCC</i>	> 50	> 50	> 50	INHIBITION TOTAL
S01	<i>Staphylococcus aureus</i>	55	50	40	48± 33
S03	<i>Staphylococcus aureus</i>	35	32	20	29,00

On constate que toutes les souches pathogènes testées sont sensibles à l'huile essentielle. L'huile essentielle de *L. angustifolia* a montré une sensibilité plus élevée chez les *S. aureus* par rapport aux entérobactéries.

Les souches à Gram positif ont montré une sensibilité très importante allant de 29mm pour *S. aureus* (S03), 48.33 pour *S. aureus* (S01) jusqu'à une inhibition totale pour, *S. aureus* ATCC.

Pour les *Enterobacteries*, on note une sensibilité plus au moins faible pour *Enterobacter cloacae*, *E.coli* 01, *Klebsiella pneumoniae* et *Raoultella ornithinolytica* avec des zones d'inhibitions de 8±33, 9±66, 11 et 14mm respectivement. Alors que pour *E. coli* ATC, la sensibilité est plus importante de 29±66 mm.

D'après les résultats, on constate que *L. angustifolia* exerce une forte activité sur les bactéries Gram positive que les bactéries Gram négative.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Chahboun et al. (2015)** et **Jianu et al. (2013)** qui ont observé une sensibilité importante de *S. aureus* par rapport à l'huile essentielle de la lavande.

Par ailleurs, l'activité antibactérienne de notre huile essentielle peut aussi, être attribuée au phénomène de synergie entre tous les constituants volatiles ; les interactions synergiques entre les différents composés peuvent être à l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible pour les composés majoritaires. Ceci est confirmé par plusieurs études (**Al-Bayati, 2008 ; Randrianarivelo et al., 2009 ; Hmamouchi et al., 2001**).

D'après les résultats obtenus, il apparaît que L'HE inhibent la croissance des bactéries avec des degrés de sensibilité différents. Cette sensibilité est attribuée principalement à l'activité antibactérienne des molécules lipophiles capables de pénétrer la double couche phospholipidique, entraînant alors un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire (**Calsamiglia et al., 2007**)

D'autres études récentes ont trouvé des résultats différentes à nos résultats (**DINEDANE H et Messouf Z., 2019**) ; les zones d'inhibitions mesurées étaient comprises entre 12 à 21 mm et 9 à 16mm la plus forte inhibition notée était pour *S. aureus* par contre pour **AICHAOUI S. et ABEOUBE H. (2019)** ont également enregistré un effet inhibiteur très faible sur toutes les souches testées (avec une zone d'inhibition de 6 mm).

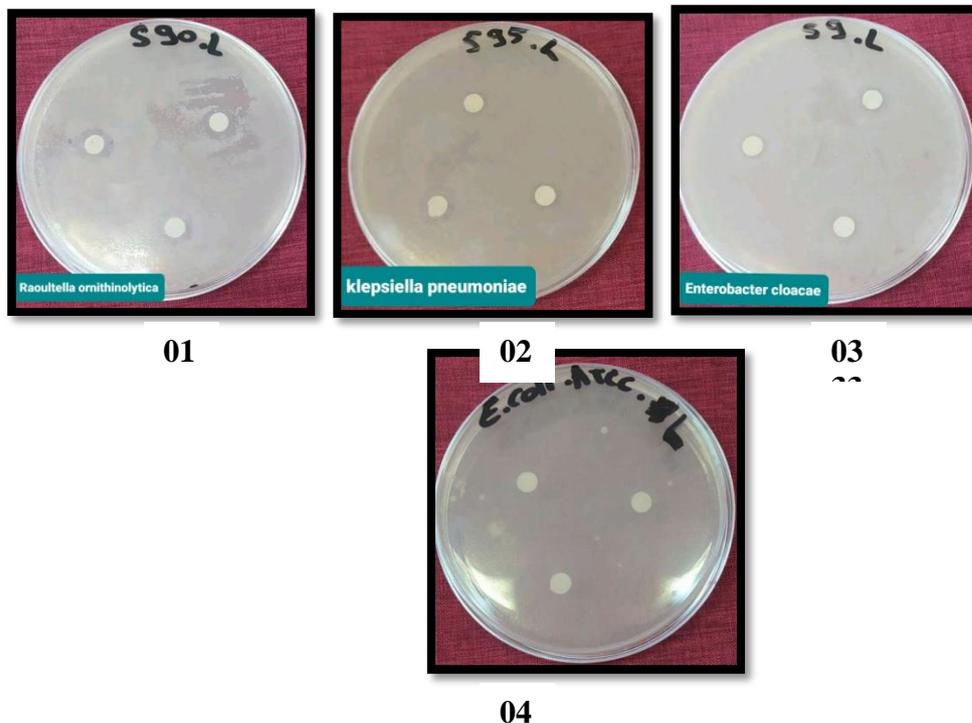
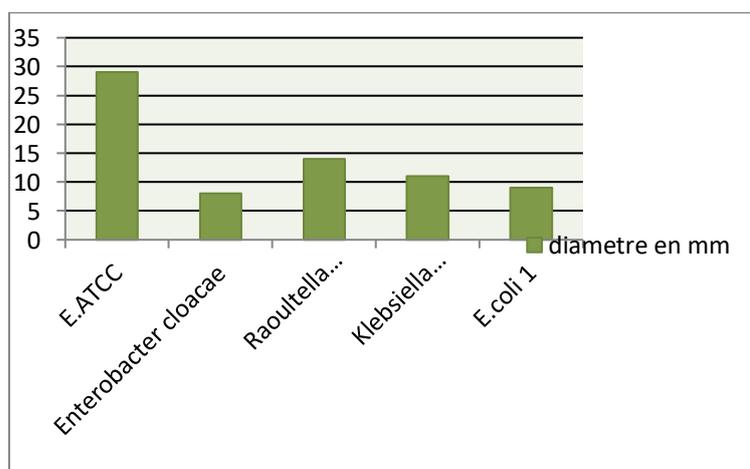


Figure 12 : photos des résultats d'aromatogramme de quelque souche testée (Gram -)1- *Raoultella ornithinolytica* 2- *Klebsiella pneumoniae*3- *Enterobacter cloacae* 4- *E. ATCC* 5- *E. coli 1***Figure13**: Résultats d'aromatogramme des souches Gram positif

L'étude de l'activité antibactérienne sur des souches Gram positive et Gram négative montre que l'effet de l'huile essentielle est plus important chez les souches Gram positif, ceci peut être dû à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les BGN qui pourrait fonctionner comme barrière efficace (Chemloui, 2014). l'absence de cette barrière chez les BGP permet le contact direct des constituants hydrophobes de l'huile essentielle avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, provoquant ainsi soit, une augmentation de la perméabilité des ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux, soit une déficience au niveau du système enzymatique (Zrai *et al.*, 2011 ; RANDRIANARIVELO *et al.*, 2009 ; BOUGHENDJIOUA, 2017 ; LAMIAE BACHIRI *et al.*, 2016).

**Figure 14**: histogramme des zones d'inhibitions des souches Gram négatif

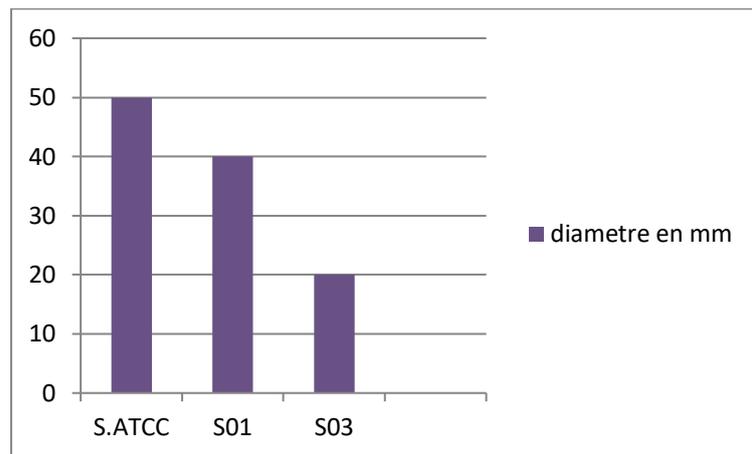


Figure 15 : Histogramme des zones d'inhibitions des souches Gram positif (**Deans et al., 1995**)

Apportant que la susceptibilité des bactéries Gram positives et Gram- négatives vis-à-vis des huiles essentielles a une légère influence sur l'accroissement du degré d'inhibition. Cependant, il apparaît que beaucoup d'huile volatiles exercent une activité importante envers les bactéries Gram positive; comme il est souvent apporté que les bactéries Gram négatives sont plus résistantes aux plantes à base d'huile essentielle **Reynolds (1996)**. On a trouvé que l'huile essentielle de *L. angustifolia* a un effet plus important sur les bactéries à Gram positif, comme *S. aureus* que sur les bactéries à Gram négatif comme *E. coli* et *K. pneumoniae*. A partir de ces résultats on peut conclure que l'huile essentielle des feuilles sèches de *L. angustifolia* présente une bonne activité antibactérienne sur les souches pathogènes multi résistantes et surtout pour les *Staphylococcus aureus* qui ont montré une inhibition totale pour certaine souche.

conclusion

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie présente un grand intérêt dans la recherche biomédicale. A la lumière de cette étude, nous avons réalisé une étude sur l'espèce «*Lavandula angustifolia*» qui est une plante médicinale de la famille des Lamiaceae ; parmi les familles les plus utilisées en médecine traditionnelle en Algérie.

Les huiles essentielles riches en principes actifs constituent un bon alternatif selon nombreuses études, Actuellement, personne ne peut nier l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, La détermination du rendement en l'huile essentielle, issue par hydro-distillation, a montré une rentabilité de 4.26%. Rendement qui peut différer selon la matière végétale, le cycle végétatif, les facteurs climatiques, la nature du sol et le mode de récolte, de stockage et la méthode d'extraction. la méthode d'aromatogramme a prouvé son efficacité sur des bactéries pathogènes multi-résistantes. A l'issue des résultats obtenus on peut conclure que la capacité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* sur les germes cibles réalisée par la méthode de disques révèle un pouvoir antibactérien très important surtout sur les bactéries Gram positive par rapport aux bactéries Gram négative. Les huiles essentielles de cette plante se sont révélées efficaces contre les bactéries multi résistantes notamment les *E. coli* résistants aux céphalosporines de 3^{ème} génération, *E. coli* productrice de betalactamases à spectre élargi (BLSE) et Staphylocoques aureus résistants à la méticilline (SARM).

il serait souhaitable de compléter cette étude comme perspectives :

- ✓ Tester l'effet d'huile essentiel de *Lavandula angustifolia* sur des microorganismes pathogènes pour l'homme à savoir les champignons et d'autres bactéries pathogènes.
- ✓ Etude de l'effet synergique entre les huiles essentielles et les antibiotiques afin d'avoir un produit antibactérien ou antifongique efficace et moins dangereux pour la santé publique.
- ✓ Etude de la composition chimique des huiles essentielles par GC/MS pour trouver la fraction la plus efficace qui agit sur les souches patogènes.

References bibliographiques

Références

- Accarias S ,2014.** Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier)
- AFNOR,** 1986), Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR,Paris, p.57.
- Angandza, G.S.** (2012). Recherche des souches de *Staphylococcus aureus* et *pseudintermedius* résistant à la méticilline dans les muqueuses anale et nasale de chiens consultés dans les cabinets vétérinaires de Dakar (Sénégal). Diplôme d'état .Ecole inter - états des sciences et médecine vétérinaires. Université cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal.104p
- Belbel Z. (2014).** Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba : Etude bactériologique et moléculaire . Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Université de Annaba Mokhtar Badji,pp162 .
- BOTINEAU M.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed. TEC&DOC L
- Bouzouita N.,** Kachouri F., Ben Halima M., et Chaabouni M. 2008. Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. Société Chimique de Tunisie. 10 : 119-125 avoisier, 2010, 1355 pp
- Bruneton J.,** 1999.- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris
- Bruneton, J.,** (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes Médicinales. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Buckingham, S. C.,** McDougal, L. K., Cathey, L. D., Comeaux, K., Craig, A. S., Fridkin, S. K., & Tenover, F. C. (2004). Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee Children's Hospital. The Pediatric infectious disease journal, 23(7), 619-624.
- Burt S.,** 2004.- Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food and Microbiology. 94: 223-253.
- Burt S.,** 2004, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: areview, International Journal of Food Microbiology, p.223-253.

CHARIK S – KADRI Y .2020. Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce *lavandula officinalis*.mémoire . UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA.65

Couderc V.L. (2001). Toxicité des huiles essentielles. Thèse de doctorat pour l'obtention du grade de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse.84p.

Dancer, S.J. and W.C. Noble. 1991. Nasal, axillary, and perineal carriage of *Staphylococcus aureus* among women: identification of strains producing epidermolytic toxin. J. Clin. Pathol. 44: 681-684.

Denise AL ALAM (2008) IMPACT DE L'INTERACTION ENTRE LES CELLULES EPITHELIALES BRONCHIQUES ET *Staphylococcus aureus* SUR LE CHIMIOTACTISME DES LYMPHOCYTES T DANS LA MUCOVISCIDOSE. UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE ARDENNE.185

Degryse A.C., Ddelpa I., Voinier M.A. (2008).Risques et bénéfices possible des huiles essentielles. Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique. Ingénieur du Génie Sanitaire.Atelier santé environnement.87p

Dufaut,ch., Véronique,L.(2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse, VUEF

Dupont F et al. (2007). systématique moléculaire

Duraffourd C., Dhervicourt L. et Laparaz J.C., 1990, Examen de laboratoire galémique, Eléments thérapeutiques synergiques, T.1.2ème édition, Masson, Paris, p.10.

Eveillard, M. (2007). Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat. Ecole doctorale d'angers. Université d'Angers. Français, p160.édition

Florine Harnist, (2013). L'huile essentielle *de lavande officinale*: etat des connaissances sur ses potentialites thérapeutiques. mémoire de diplôme d'état de docteur en pharmacie,université de strasbourg, p. 18-19.

Flandrois, J.C., Courco, L., Lemeland, J.F., Ramuc, M., Sirot, J. Et Souny, C.J. (1997). Bactériologie médicale. Pesses universitaire de lyon. Isbn : 2729705678.

FAUCHERE J.L.et AVRILJ.L.,2002 : Bactériologie générale et médicale P : 368

- Géraldine, D.** (2009). Caractérisation, épidémiologie et pathogénie d'un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline portant le gène de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1).Thèse de doctorat. Sciences agricoles. Université Claude Bernard - Lyon I. Français, p220
- Georges A., Herawaty S., Schwenter F. et Shih-Hann Su.** 2020. « *Raoultella ornithinolytica: Emergence and Resistance* », *Infection and Drug Resistance*, Dovepress, vol. 13, p. 1091-1104
- Guinan, M.E.,** B.B. Dan, R.J. Guidotti, A.L. Reingold, G.P. Schmid, E.J. Bettoli, J.G. Lossick, K.N. Shands, M.A. Kramer, N.T. Hargrett, R.L. Anderson and C.V. Broome. 1982. Vaginal colonization with *Staphylococcus aureus* in healthy women: a review of four studies. *Ann. Intern. Med.* 96: 944-947
- Gulluce ,M** et all 2003 Invitro Antibactériel ,Antiflungal and Anti oxidant Activities of the Essentiel oil and Methanol extracts of herbal parts and callus cultures of saturya hortensisL *journal of agricultural and food chemistry* 51:3950-3965
- Grimont F. et Grimont P.A.D.** 2006. The Genus *Enterobacter*. *Prokaryotes*; 6:197– 214
- Hammer K. A.,** Carson C. F. et Riley T. V., 1999, Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology* Vol. 86, Issue 6, p.985-990.
- Henriques IS,** Fonseca F, Alves A, Saavedra MJ, Correia A. Occurrence and diversity of integrons and beta-lactamase genes among ampicillin-resistant isolates from estuarine waters. *ResMicrobiol.déc2006;157(10):938-47.*
[https://doi.org/10.1016/S0079-6352\(03\)80056-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6352(03)80056-5)
<http://reco-plantes-fraiches.servhome.org/Reconnaitre/Lavande/Lavande.htm> (dernière consultation:10juin2013).
<http://www.pharmaciedelepouille.com/lavande.htm> (dernière consultation: 25 janvier 2013).
- Iabadene H., Messai Y., Alouache S.,** Arlet G. et Bakour R. 2010. Mécanismes de résistance aux β -lactamines et aux quinolones d'*Enterobacter* dans les hôpitaux d'Alger. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*; 4 (1): 24
- Issartel, B.,** Tristan, A., Lechevallier, S., Bruyere, F., Lina, G., Garin, B., ... & Etienne, J. (2005). Frequent carriage of Panton-Valentine leucocidin genes by *Staphylococcus aureus* isolates from surgically drained abscesses. *Journal of clinical microbiology*, 43(7), 3203-3207.

- Joly B. et Reynaud A. 2007.** Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p 3-182
- Kalemba D. & Kunicka A., 2003.-** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry. 10: 813-829.
- Kimbaris A.C., Siaty N.G., Daferera D.J., Tarantilis P.A., Pappas C.S., Polissiou M.G., 2006.-** Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). Ultrason Sonochem. 13: 54-60.
- Kimball D.A., 1999.** Citrus processing: A complete guide, 2nd edition, Aspen Publication INC., Maryland, 435p
- Lardry J. M, Haberkorn V. (2007).** Les huiles essentielles: principes d'utilisation
- Lefrère J.-J. 2002.** Transfusion sanguine: une approche sécuritaire. John Libbey Eurotext. p 450
- Lowy Fd** *Staphylococcus aureus* infection .N Engle J Med .1998 ;339 :520.32
- Martini M.C., Seiller M., 1999.** Actifs et additifs en cosmétologie. Editions Tec & Doc, Paris, 102p.
- M. TOURE Daouda. 2015.** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. These . Spécialité : biochimie. L'université Félix Houphouët-Boigny.153
- Morais VP, Daporta MT, Bao AF, Campello MG, Andrés GQ.** Enteric Fever-Like Syndrome Caused by *Raoultella ornithinolytica* (*Klebsiella ornithinolytica*). J Clin Microbiol. 3 janv 2009;47(3):868-9.
- NAUCIEL C. et VILDE JEAN-LOUIS., 2005 :** Bactériologie médicale .Edition Masson ; 2-294- 01858-3, p77-80. New York, N.Y.
- Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. et Roura S.I., 2003,** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, Lebensm.-Wiss.u.-Technol.36, p.679-684.
- Pilly E** maladies infectieuses et tropicales 21 ed 2008
- Prusinowska, R., Krzysztof, B., Śmigielski, R. (2014).** Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L) .General Food Chemistry, p 57- 66
- Prescott L.M, Harley J.P, Klein D (2010).** Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université.

- Pellerin JL**, Gautier M, Le Loir Y (2010). Identification de l'espèce au sein du genre. Monographies de Microbiologie. In Larpent JP, le Loir Y, Gautier M. *Staphylococcus aureus*. Editions Tec & Doc. Paris : Lavoisier, p. 1-20.
- Qureshi Z.A.**, Paterson D.L., Pakstis D.L., Adams-Haduch J.M., Sandkovsky G., Sordillo E., Polsky B., Peleg A.Y., Bhussar M.K. et Doi Y. 2011. Risk factors and outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections. International Journal of Antimicrobial Agents; 37: 26–32.
- Rios ,j.L** , Recio ,M.C (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity .journal of Ethnopharmacology 100, 80-84
- Santoyo S.**, Cavero S., Jaime L., Ibanez E., Senorans F.J. & Reglero G., 2005.- Chemical composition activity of *Rosmarinus officinalis L.* essential oil obtained via supercritical fluid extraction. Journal of Food Protection. 68: 790-795
- Shalcross LJ** , fragaszy E ,johnson AM , hayward AC , the role of the panton valentine leucocidine toxin in staphylococcal disease : systymtic review and meta analysis.lancet infect dis ,2013 ,13 :43-54
- Stolz -Denner**, S., MSN.,CCIT.,CRNA.(2008) *Lavandula Angustifolia* Miller English Lavender. Holistic nursing practice .p57-63
- van Belkum**, A., D.C. Melles, S.V. Snijders, W.B. van Leeuwen, H.F. Wertheim, J.L. Nouwen, H.A. Verbrugh and J. Etienne. 2006. Clonal distribution and differential occurrence of the enterotoxin gene cluster, egc, in carriage- versus bacteremia-associated isolates of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 44: 1555-1557.
- Vanaclocha ,B** ,Canigueral , S (2003) Fytotérapie , In Rios , ,j.L , Recio ,M.C (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity .journal of Ethnopharmacology 100, 80-84
- Vitko, N. P.**, & Richardson, A. R. (2013). Laboratory Maintenance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Current protocols in microbiology, 28(1), 9C-2.
- WICHTL M.**, ANTON R 1999-Plantes thérapeutiques –Technique et Documentation, Paris.560p.
- ZABEIROU ; HACHIMOU**. Etude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicata L*) et de la Poivree (*Mentha Piperita L*) dans la région d'Ouargla, Mémoire, Université de Kasdi Merbbah_Ouargla, Algérie, 2005 ;
- Yves, L. L.**, & Michel, G. A. (2009). *Staphylococcus aureus*. Lavoisier.

Références bibliographiques