



République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
scientifique

Université de Tébessa

Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département : Biologie appliquée.



Mémoire 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

Thème

**Effet inhibiteur des huiles essentielles de *Laurus nobilis*
et de *Pimpinella anisum* sur les entérobactéries
productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE)**

Présenté par :

Gouffi Yousra

Mabrouk Amel

Devant le jury :

Mme Smaali	MCA	Université de Tébessa	Présidente
Mme Azizi	MAA	Université de Tébessa	Examinatrice
Mr Mechai Abdelbasset	Pr	Université de Tébessa	Promoteur
M ^{elle} Fares Roufaïda		Université de Tébessa	Co-promotrice

Résumé

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques connaît une évolution mondiale préoccupante avec un impact croissant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Le recours aux ressources naturelles en général et aux plantes médicinales en particulier devient alors une des plus importantes et intéressantes pistes à explorer pour la recherche des nouveaux produits antibactériens plus efficaces.

Dans le cadre de ce travail, on s'est intéressé à l'étude des huiles essentielles de deux plantes médicinales. Il s'agit de *Laurus nobilis* et *Pimpinella anisum*, l'extraction de ces huiles a été réalisée par hydrodistillation. Aussi, l'effet inhibiteur des huiles essentielles extraites est effectué sur cinq souches bactériennes (E-BLSE) par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé.

L'étude de l'activité antibactérienne a montré que seulement l'huile essentielle de *Laurus nobilis* possède un effet inhibiteur sur les souches testées surtout sur la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 avec une valeur de diamètre de la zone d'inhibition de 40 mm.

Mots-clés : Résistance, BLSE, *Laurus nobilis*, *Pimpinella anisum*, huiles essentielles

ملخص

تشهد مقاومة البكتيريا المعوية للمضادات الحيوية تطورا مثيرا للقلق في جميع أنحاء العالم مع زيادة تأثير إنزيم β -lactamase ذو الطيف الممتد. بالتالي أصبح استخدام الموارد الطبيعية بشكل عام و النباتات الطبية على وجه الخصوص أحد أهم الوسائل و أكثرها إثارة للاهتمام لاستكشافها في البحث عن منتجات جديدة و أكثر فعالية مضادة للبكتيريا. في إطار هذا العمل، اهتمنا بدراسة الزيوت الأساسية لنوعين من النباتات الطبية. و هما ورق الغار و اليانسون، و تم استخراج هذه الزيوت عن طريق التقطير المائي. بالإضافة الى ذلك، التأثير التثبيطي للزيوت الأساسية المستخرجة تم تنفيذه على خمس سلالات بكتيرية (بكتيريا معوية صانعة BLSE) بواسطة تقنية انتشار الأفراس على وسط صلب. أظهرت دراسة النشاط المقاوم للبكتيريا أن الزيت العطري المستخرج من ورق الغار له تأثير مثبط على السلالات المختبرة خاصة على *E.coli ATCC 25922*، حيث كانت قيمة قطر منطقة التثبيط 40 ملليمتر.

كلمات مفتاحية: مقاومة، انزيم BLSE، ورق الغار، اليانسون، زيوت أساسية

Abstract

The resistance of *Enterobacteriaceae* to antibiotics is experiencing a worrying worldwide evolution with an increasing impact of extended-spectrum β -lactamase (ESBL). The use of natural resources in general and medicinal plants in particular become one of the most important and interesting avenues to explore in the search for new and more effective antibacterial products.

As part of this work, we were interested in the study of the essential oils of two medicinal plants. These are *Laurus nobilis* and *Pimpinella anisum*, the extraction of these oils was carried out by hydrodistillation. Also, the inhibiting effect of the essential oils extracted is carried out on five bacterial strains (E-ESBL) by the method of diffusion of discs on agar medium.

The study of the antibacterial activity showed that only the essential oil of *Laurus nobilis* has an inhibitory effect on the strains tested, especially on *E.coli* ATCC, with a diameter value of the inhibition zone of 40 mm.

Keywords: Resistance, ESBL, *Laurus nobilis*, *Pimpinella anisum*, essential oils.

REMERCIEMENTS

Le grand merci s'adresse au bon dieu le tout-puissant, de nous avoir donné la force, la volonté et la patience, et qui nous a guidé et éclairé notre chemin tout au long de notre parcours jusqu'à ce jour.

*Nos vifs remerciements s'adressent à notre promoteur **Pr. Mechai Abdelbasset**, pour ses conseils judicieux, son jugement critique et son appui tout au long de cette étude. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir sont énormément marqués.*

*Nous tenons également à remercier les membres de notre jury : **Mme Smaali** et **Mme Azizi**, d'avoir accepté de présider et d'examiner ce travail.*

*Nous n'oublions pas de remercier infiniment **M^{lle} Fares** pour leur aide et leur encouragement pour surmonter les difficultés qui nous avons rencontrées aux cours de la réalisation de ce travail.*

Merci à nos familles qui nous ont soutenues et aidées à accomplir ce travail. Nous tenons à remercier également tous les gens qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.

Amel et Yousra

DEDICACES

Je dédie humblement ce modeste travail à:

A mon Dieu le tout puissant le miséricordieux qui m' a donné la force et le courage de bien mener ce travail.

A ma mère, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices.

A mon père, pour son soutien, son affection et la confiance qu' il m' a accordé.

A mon frère Abdeallah et ma sœur Takwa.

A mes tantes et mes oncles.

A mes cousines: Samia, Zaineb, Ikram, Manel et mes cousins: Tifa, Mahdi, Yahia.

A toute ma famille, source d' espoir et de motivation.

A tous mes amis: Hadjer, Loubna, et tous ceux qui m' aiment.

*A mon amie, binôme, collègue, partenaire dans tout **Gouffi Yousra**. Je te souhaite tout se que*

tu veux avec une vie pleine de la joie et de succès.

A vous cher lecteur.

Que ce travail soit une part de ma reconnaissance envers eux

Amel

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné

*Un magnifique model de labeur et de persévérance, de la tendresse, de
L'amour et de la force et dont je suis fière et reconnaissante de les avoir*

Comme parents.

Pour

Mon frère Said et mes sœurs Ikram, Hadil et Ritedj pour

Leur support continuel et leur amour.

A mes amies

A mon adorable binôme Amel

Et à ceux qui me sont très chers et qui m'ont aidé de près ou de loin à

Réaliser ce travail.

Yousra

Liste des tableaux :

N°	Titre du tableau	Page
01	Classification des entérobactéries les plus rencontrées en pathologie humaine.	04
02	Principaux caractères biochimiques de certaines entérobactéries.	05
03	Types d'antigènes présents chez les entérobactéries.	06
04	Classification botanique de <i>L.nobilis</i> .	32
05	Classification botanique de l'anis vert.	35
06	Les souches bactériennes utilisées et leurs origines.	41
07	Représentation des résultats des HEs de <i>LN</i> .	52
08	Représentation des résultats des HEs de <i>PA</i> .	52
09	Représentation des résultats des HEs de <i>LN</i> et <i>PA</i>	54
10	Résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'HE de <i>Laurus nobilis</i> sur les E-BLSE.	54
11	Représentation des moyennes de CMI pour chaque souche.	55
12	Représente les concentrations minimales bactéricides (CMB) d'HE de <i>Laurus nobilis</i> sur les E-BLSE.	57
13	Représente les moyennes de CMB d'HE de <i>LN</i> pour chaque souche.	57
14	Comparaison entre les moyennes de la CMI et CMB.	58
15	Comparaison des CMI et CMB de quelques études.	58

Liste des figures :

N°	Titre de figure	Page
01	Les modes d'action d'antibiotiques.	14
02	Noyeau β -lactame.	14
03	Classes d'antibiotiques à base d'anneau β -lactame.	15
04	Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques.	17
05	Structure de la paroi des entérobactéries.	17
06	Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame.	21
07	Prévalence des d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi dans le monde.	23
08	La structure chimique des compositions des huiles essentielles.	25
09	Groupement isopréniques.	26
10	Composés monoterpéniques.	26
11	Principe schématisé de l'hydrodistillation.	29
12	Principe schématisé de l'extraction par l'entraînement à la vapeur.	29
13	Extraction par expression à froid.	30
14	Extraction sans solvant assistée par micro-ondes.	30
15	Les feuilles de laurier.	33
16	Les fleurs de <i>L.nobilis</i> .	34
17	Les fruits de <i>L.nobilis</i> .	34
18	La partie aérienne de l'anis vert.	36
19	Les graines de l'anis vert.	36
20	Plan générale de la partie expérimentale.	38
21	Morphologie de <i>Laurus nobilis</i> .	40
22	Morphologie de <i>Pimpinella anisum</i> .	40
23	Dispositif de l'hydrodistillation de type Clevenger.	43

N°	Titre de figure (Suite)	Page
24	Les premières étapes préalables à l'extraction de <i>LN</i> .	44
25	Les deuxièmes étapes préalables à l'extraction de <i>LN</i> .	44
26	Préparation des suspensions.	45
27	Ensemencement des souches.	45
28	Dépôt des disques et de l'huile essentielle.	46
29	Dépôt du disque (la méthode de la micro atmosphère).	47
30	La méthode de CMI.	49
31	Huile essentiel de <i>Laurus nobilis</i> .	50
32	Huile essentiel de <i>Pimpinella anisum</i> .	50
33	Résultats des effets des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> .	50
34	Résultats des effets des huiles essentielles de <i>Pimpinella anisum</i> .	51
35	Résultats de la méthode de micro atmosphère.	53
36	Observations des microplaques de <i>LN</i> pour les souches <i>Enterobacter claocea</i> , <i>R.ornithinolytica</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>Escherichia coli</i> .	55
37	Observations de la microplaque pour la souche <i>E.coli ATCC 25922</i> .	56
38	Les résultats de la CMB.	57

Liste des abréviations

%: Pourcentage.

°C: Degré Celsius.

ARN16s : Acide ribonucléique ribosomique « petite sous-unité ».

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

Ag : Antigène.

AmpC: Bêta-lactamase chromosomique.

ARNr: Acide ribonucléique ribosomique.

ATB : Antibiotique.

ATCC: American Type Culture Collection.

BCP : Pourpre de bromocrésol.

BES : Brazilian Extended Spectrum (type d'une bêta-lactamase à spectre étendu).

BGN: Bacilles à Gram négatif.

BLSE : Bêta-lactamase à spectre étendu.

BMH : Bouillon Mueller-Hinton.

BMR : Bactérie multi-résistante.

C : Carbone.

C3G : Céphalosporines de 3ème génération.

Cit : Citrate.

Cm : Centimètre.

CMB : Concentration minimal bactéricide.

CMI: Concentration minimal inhibitrice.

CTX-M : Céfotaximase-Munich (Type d'une bêta-lactamase à spectre étendu).

E-BLSE : Bactérie productrice de bêta-lactamase à spectre étendu.

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique.

g: Gramme.

GES : Guyana Extended Spectrum bêta-lactamase.

GLU : Glucose.

GN: Gélose nutritive.

h : Heure.

H2S : Sulfure d'hydrogène.

HD : hydrodistillation.

HE : Huile essentielle.

Ind : Indol.

Lac : Lactose.

LPS: Lipopolysaccharide.

MH: Gélose Muller Hinton.

ml: Millilitre.

mm : Millimètre.

Mob : Mobilité.

MR : Methyl Red.

NaCl : Chlorure de sodium.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

ONPG: Ortho-Nitrophényl- β -galactosid.

OXA: Oxacillinase.

PAM : Plantes médicinales et aromatiques.

PER : Pseudomonas extended resistance.

pH : Potentiel d'hydrogène.

PLP: Protéines de liaison aux pénicillines.

Kb: kilo base.

SHV: Sulfhydryl variable.

spp : Species (espèces).

T : Température.

TDA: Tryptophane désaminase.

TEM : Temnoniera.

UFC : Unités formant colonie.

UV : Ultra-violet.

VP: Voges Proskauer.

Zn⁺² : Ion Zinc.

μ l : Microlitre.

μ m: Micromètre.

Table des matières :

Résumé.....	Erreur ! Signet non défini.
ملخص	i
Abstract	iii
REMERCIEMENTS	iv
DEDICACES	v
DEDICACES	vi
Liste des tableaux :	vii
Liste des figures :	viii
Liste des abréviations	viii
INTRODUCTION.....	1

Partie I: Revue bibliographique

Chapitre 01 : Généralités sur les entérobactéries

1. Définition:.....	3
2. Classification:.....	3
3. Habitat :	4
4. Caractères bactériologiques :	4
4.1. Caractères morphologique :	4
4.2. Caractères biochimiques :	5
4.3. Caractères culturels :	5
4.4. Caractères antigéniques :	6
5. Principaux entérobactéries:.....	6
5.1. <i>Escherichia coli</i> :	6
5.2. <i>Klebsiella</i> :	8
5.3. <i>Serratia</i> :	8
5.4. <i>Raoultella</i> :	9
5.5. <i>Enterobacter</i> :	10
6. Sensibilité aux antibiotiques:.....	10

Chapitre 02 : Résistance aux antibiotiques

1.	Les antibiotiques :	12
	1.1. Définition:.....	12
	1.2. Mode d'action :	12
2.	β-lactamines :	14
	2.1. Définition :.....	14
	2.2. Classification des β -lactamines :	14
	2.3. Mécanisme :	15
3.	Résistance aux β-lactamines :	16
	3.1. Notion de la résistance bactérienne :	16
	3.2. Type de résistance :	16
	3.3. Mécanisme de la résistance des entérobactéries aux bêta-lactamine :	16
4.	Les β-lactamases :	18
	4.1. Définition :.....	18
	4.2. Classification :.....	18
	4.3. Mode d'action :	20
5.	Les β-lactamases à spectre élargie :	21
	5.1. Définition :.....	21
	5.2. Différentes types de BLSE :.....	21
	5.3. Epidémiologie des β -lactamases à spectre élargi:	22

Chapitre 03: Les huiles essentielles

1.	Les huiles essentielles :	24
	1.1. Introduction :	24
	1.2. Définition :.....	24
	1.3. Composition chimique:	24
	1.4. Les propriétés biologiques des huiles essentielles :.....	27
	1.5. Procédés d'extraction des HE :	28
	1.6. Principaux domaines d'application :	31
2.	Les plantes médicinales et aromatiques :	32
	2.1. Généralité :.....	32
	2.2. Les plantes étudiées :.....	32
	2.2.1. <i>Laurus nobilis</i> :.....	32
	a) Généralité :.....	32
	b) Place dans la systématique :	32
	c) Nomenclature :.....	33
	d) Origine et distribution :	33
	e) Description botanique :.....	33
	f) Composition chimique :	34
	2.2.2. <i>Pimpinella anisum</i> :.....	35
	a) Généralité :.....	35
	b) Place dans la systématique :	35

c) Nomenclature :.....	35
d) Origine et distribution :	35
e) Description botaniques :	36
f) Composition chimique :	37

Partie II: Revue expérimentale

Matériels et méthodes

1. Objectif générale :	38
2. Cadre d'étude :	38
3. Matériels et méthodes :	39
3.1. Matériels :.....	39
3.1.1. Matériels non biologiques :.....	39
3.1.2. Matériels biologiques :	39
3.2. Méthodes :	43
3.2.1. Extraction des huiles essentielles :	43
3.2.2. Revivification des souches bactériennes :.....	45
3.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles :	45
a) Aromatogramme : La méthode de Vincent :	45
b) Méthode de la micro atmosphère :.....	46
c) Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :.....	47
d) Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :	49

Résultats et discussion

1. Résultats d'activités antibactériennes :	50
1.1. Aromatogramme :	50
1.2. Méthode de la micro atmosphère :.....	53
1.3. Résultats de la CMI (concentrations minimales inhibitrices) :	54
1.4. Résultats de la CMB (concentrations minimales bactéricides) :.....	55
Conclusion et perspectives :	60
Références bibliographiques.....	61

Annexes

Introduction

INTRODUCTION

Depuis l'introduction des antibiotiques dans l'arsenal thérapeutique des maladies infectieuses, les microorganismes ont développé des moyens de défense leur conférant une insensibilité aux antibactériens. Toutes les espèces ou germes bactériens sont concernés par le phénomène de la résistance aux antibactériens posant, parfois de véritables problèmes thérapeutiques (**Goro, 2021**). La résistance aux antimicrobiens d'un large éventail d'agents infectieux est devenue extrêmement préoccupante pour les pays et de nombreux secteurs d'activité, représentant une menace croissante pour la santé publique. Il est particulièrement alarmant de constater la propagation rapide, dans le monde entier, de bactéries multi résistantes (BMR) provoquant des infections courantes qui ne sont pas sensibles au traitement par les antimicrobiens existants (**Daffe, 2018**).

Parmi ces BMR, sont incluses les entérobactéries, constituées d'un ensemble important de bactéries dont certaines sont pathogènes. Leur pathogénicité est exacerbée par leur résistance aux antibiotiques, notamment aux β -lactamines, par la production de β -lactamases à spectre élargi (BLSE), qui est souvent associée à la résistance à certaines familles d'antibiotiques (**Gadou, 2019**).

Les entérobactéries occupent une place importante en pathologie humaine et constituent plus de 80% des germes isolés au laboratoire de Biologie médicale. La fréquence, la gravité des infections communautaires ou nosocomiales dont ces bactéries peuvent être responsables (septicémies, infections nosocomiales, méningites...), traduisent des difficultés de prise en charge liées principalement à leur résistance aux antibiotiques Parmi les entérobactéries les genres les plus fréquemment rencontrés en pathologies humaines sont entre autres *E.coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Enterobacter* etc....(**Daffe, 2018**).

Au vu de la propagation du phénomène de résistance et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antibactériens, est devenue plus qu'indispensable. Pour être innovants et contourner les mécanismes de résistance bactériens, les antibiotiques de demain devront viser de nouvelles « cibles » d'action chez les bactéries. Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives (**Guinoiseau, 2010**).

Actuellement, les plantes aromatiques sont utilisées comme un traitement alternatif à l'antibiothérapie pour les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques. Ces plantes aromatiques sont caractérisées par la synthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles. La connaissance des plantes et l'étude de leurs

propriétés, leurs effets thérapeutiques se révèlent une nécessité primordiale, pour découvrir de nouveaux principes actifs pouvant annoncer une révolution de la médecine. Les huiles essentielles sont, donc, devenues une matière première de valeur très estimable attirant de plus en plus les chercheurs (**Echchaoui, 2018**).

Dans notre travail, on s'intéressera à l'évaluation de l'activité antibactérien de l'huile essentielle extraite à partir de deux plantes: *Laurus nobilis* et *Pimpinella anisum* contre les entérobactéries BLSE. Le choix de ces plantes est basé sur sa disponibilité tout au long de l'année et l'importance de ses rendements ainsi qu'à l'intérêt thérapeutique que promettent ses huiles essentielles. Notre étude sera scindée en deux parties :

Une partie théorique comprenant trois chapitres, où le premier donnera une généralité sur les entérobactéries, le second concernera la résistance aux antibiotiques et les E-BLSE, tandis que le troisième sera consacré à l'étude des huiles essentielles d'une manière générale et la monographie des plantes.

Une partie expérimentale présentera les matériels et les méthodes utilisées, l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent.

Elle finira par une conclusion générale résumant les résultats obtenus.

Partie I:
Revue
bibliographique

Chapitre 01 :

Généralités sur

les entérobactéries

1. Définition:

Les entérobactéries sont des bactéries très inclurées en pathologie infectieuse humaine isolées lors du diagnostic bactériologique (Goro, 2021). Le nom d'entérobactérie a été donné puisqu'ils sont en général des hôtes normaux ou pathologiques du tube digestif de l'homme et des animaux (Daffe, 2018). Au niveau phénotypique, ces bactéries sont des bacilles Gram négatif droits; chimioorganohétérotrophes; mobiles ou immobiles; non sporulés; aérobies facultatifs; produisant de l'acide à partir du glucose; pas de besoin en sodium, ni de stimulation; possédant catalase; dépourvus d'oxydase; réduisent habituellement les nitrates en nitrite (pas en N₂) (Goro, 2021). Certaines entérobactéries peuvent:

- participer au cycle naturel des matières organiques.
- coloniser et dégrader des produits agroalimentaires.
- provoquer des maladies parfois graves chez l'homme ou chez l'animal.
- Utilisées dans les procédés industriels comme la fabrication des fromages, des alcools (Carip, 2008).

2. Classification:

Les entérobactéries forment un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma *Enterobacteriaceae*. Cette famille est très hétérogène sur le plan pathogénie et écologie où se trouve plus de 30 genres et 130 espèces (Tidrarine, 2019). Elle est classifiée en genres, selon les caractères biochimiques et métaboliques, puis en espèces surtout selon les caractéristiques antigéniques. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Salmonella*...), soit commensales (*Escherichia coli*, *Klebsiella*...), soit encore saprophyte (*Serratia*, *Proteus*) (Carip, 2008). Les principales genres et espèces de cette famille sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau 01: Classification des entérobactéries les plus rencontrées en pathologie humaine (Larpen, 2000).

Genres	Espèces
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi</i>
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter gergovia</i>
<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i> <i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Proteus</i>	<i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus mirabilis</i>
<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

3. Habitat :

Les entérobactéries sont ubiquitaires, leur principale particularité commune est d'être présente dans la flore digestive de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur distribution dans la nature est néanmoins plus large, parce qu'on les retrouve chez les végétaux et dans l'environnement (sol et eau). Cette ubiquité n'est cependant pas général car quelques espèces occupent des niches écologiques spécifiques (Carip, 2008), donc on peut trouver les entérobactéries dans:

- Les cadavres d'animaux.
- Les fumiers et les eaux d'égout.
- Dans l'air, et par contamination dans les eaux d'alimentation.
- À la surface des téguments et des muqueuses (Daffe, 2018).

4. Caractères bactériologiques :

4.1. Caractères morphologique :

La plus part des entérobactéries ont une morphologie habituellement typique (Goro, 2021), ils sont:

- Des bacilles (de 2 à 6 μm de long sur 0,3 à 0,5 μm de large).
- Gram-négatifs.
- Non-sporulants.
- Croissance en aérobie ou anaérobie.
- Mobiles (le plus souvent flagellés péritriches) ou non mobile (*Klebsiella*, *Shigella*).
- Cellules isolées ou par paires.
- Disposent de pili (fimbriae) et capsulé pour augmenter l'adhérence (Larpen, 2000).

4.2. Caractères biochimiques :

Les caractères d'identification qui définissent les entérobactéries sont essentiellement "biochimiques".

Le tableau ci-dessous résume les caractères d'identification des genres le plus fréquemment rencontrés (**Ben Moussa, 2016**) :

Tableau 02: Principaux caractères biochimiques de certaines entérobactéries (**Gadou, 2019**).

	Glu	Lac	ONPG	Ind	VP	Cit	Mob	Urée	TDA	H ₂ S
<i>Escherichia</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+/-
<i>Enterobacter</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	+	+	+	+/-	+	+	-	+	-	-
<i>Serratia</i>	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Salmonella</i>	+	-	-	-	-	+/-	+	-	-	+
<i>Shigella</i>	+	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	+	-	-	+/-	-	+/-	+	+	+	+/-
<i>Providencia</i>	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<i>Yersinia</i>	+	-	+	+/-	+	-	+	+	-	-

(+) : positif ; (-) : négatif ; (+/-) : variable ; ONPG : Ortho NitroPhényl Galactosid ;
 VP : Voges Proskauer ; Glu : Glucose ; Lac : Lactose ; Ind : Indole ; Cit : Citrate ;
 Mob : Mobilité ; TDA : Tryptophane désaminase ; H₂S : Hydrogène sulfureux.

4.3. Caractères cultureux :

Les bactéries de cette famille cultivent facilement sur milieux ordinaires (Mac Conkey ou le BCP) en 18 à 24 h et utilisent une très large variété de composés organiques simples comme source d'énergie (sucres, acides aminés, Acides organiques) (**Benzeggouta, 2005**).

La température optimale de leur croissance est 37°C mais on peut cultiver entre 20°C et 40°C en aérobie ou en anaérobie. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5,5 – 8) aussi ils tolèrent les variations de la pression osmotique (**Meziani, 2012**).

Leur pousse se révèle par un trouble uniforme du bouillon et par l'apparition de colonies d'un diamètre supérieur à 1 mm sur milieu gélosé. Ainsi on distingue cinq types de colonies :

- **Colonies S (smooth)** : lisses, arrondies, humides, brillantes, blanches ou translucides, elles sont de 2 à 4 mm de diamètre.
- **Colonies R (rugueuses)** : sèches à contours irréguliers et mates.

- **Colonies M (muqueuses):** grosses colonies ± confluentes (*Klebsiella spp*) (Tidrarine, 2019).
- **Colonies naines:** s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. Elles ne sont pas exceptionnelles chez *Escherichia coli* isolé d'infections urinaires (Ben Moussa, 2016).
- **Envahissement de la gélose :** formation d'un tapis uniforme (*Proteus*) (Tidrarine, 2019).

4.4. Caractères antigéniques :

Du point de vue antigénique, les entérobactéries possèdent plusieurs types d'antigènes différents (Carip, 2008), permet de classer les souches appartenant à une même espèce ou au même genre en sérotypes. On distingue trois types d'antigènes : O (Paroi), H (flagelle), K (capsule) (Tableau 03) (Akel, 2014).

Tableau 03: Types d'antigènes présents chez les entérobactéries. (Akel, 2014)

Antigènes O	Ag de paroi (toujours présents) appelé antigène somatique.	-composition LPS(endotoxine bactérienne). -Thermostables. -Agglutination granulaire lente difficilement dissociable (corps bactériens agglutinés).
Antigènes H	Ag flagellaire si mobilité.	-Thermolabiles. -Agglutination floconneuse facilement dissociable par agitation (agglutination par les flagelles).
Antigènes K	Ag de surface.	- Ag de capsule si souche capsulée, de nature polysaccharidique (virulence). - Ag d'adhérence. - Agglutination granulaire stable lente. - Antigène O inaccessible.

5. Principaux entérobactéries:

5.1. *Escherichia coli* :

L'*E.coli* est une bactérie potentiellement pathogène pour l'homme, décrit pour la première fois en 1885 par l'allemand Theodor Escherich. *E.coli* représente une entérobactérie mobile commensale du tube digestif, possédant une nitrate réductase et une catalase, dépourvue d'oxydase, non halophile, capable de fermenter le lactose et produire l'indole et posséder différentes enzymes.

Cette bactérie représente 80 à 90 % des coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux c'est à dire capables de fermenter le lactose à 44,5°C (Balière, 2016).

- **Habitat :**

E.coli est l'espèce dominante de la flore intestinale, il commence la colonisation du tube digestif dès les premières heures après la naissance. On peut retrouver cette bactérie dans le sol, l'eau et/ou les aliments témoigne d'une contamination fécale (**Carip, 2008**).

- **Pouvoir pathogène :**

Les souches pathogènes d'*Escherichia coli* peuvent provoquer des infections humains et animaux, la plus part de ces souches peuvent coloniser les muqueuses grâce à des adhésines (adhésines fimbriale), qui représentent l'un des facteurs essentiels de colonisation, et facilitent la liaison des bactéries aux cellules eucaryotes (**Hacker, 1992**).

L'*E.coli* peuvent causer des infections intestinales (entérites, diarrhées) et extra-intestinales (infections urinaires, septicémies, méningites), peuvent être différenciées en plusieurs catégories, on distingue:

a. Les **ETEC** (*E.coli* **entérotoxigènes**) ont la capacité de sécréter une entérotoxine qui provoque une hypersécrétion d'eau et de chlore et une diarrhée aqueuse importante. La maladie est disparaît en deux à trois jours

b. Les **EIEC** (*E.coli* **entéro-invasifs**) ont la capacité d'envahir les entérocytes et de les détruire, en provoquant des ulcérations au niveau de la muqueuse du gros intestin avec une diarrhée survient après une incubation de 24h.

c. Les **EHEC** (*E.coli* **entérohémorragique**) sont capables de se fixer á la surface des entérocytes, de détruire la bordure en brosse et de produire des cytotoxines. La diarrhée devient une hémorragie digestive sans inflammation.

d. Les *E.coli* **entéropathogènes** ne sont ni invasive ni toxinique peuvent détruire les microvillosités de membrane des entérocytes.

e. *E.coli* **entéroaggrégatif** sécrète une entérotoxine qui provoque une nécrose de leur pôle apicale.

f. Les *E.coli* à **adhésion diffuse**: adhèrent à toute la surface des entérocytes pour provoquer des diarrhées persistantes aqueuses (**Carip, 2008**).

5.2. *Klebsiella* :

Ce genre a été nommé par Trevisan en 1887 pour honorer Klebs Edwin, un microbiologiste Allemand du 19^{ème} siècle (**Belbel, 2014**), il est classé parmi les cinq agents pathogènes de gram-négatifs les plus couramment rencontrés dans les infections hospitalières (**Hansen et al., 2004**). Ce genre bactérienne est toujours immobile, capsulé, naturellement résistantes aux antibiotiques, MR-négatifs, VP positifs, ses cellules sont généralement : isolées, par paire, en courte chaîne (**Singleton, 2008**).

- **Habitat :**

Les klebsielles se trouvent partout dans la nature: dans le sol (participent à la fixation de l'azote), dans les eaux et parfois parasites. On le trouve également dans le tube digestif et dans la flore respiration des mammifères y compris l'homme (**Carip, 2008**).

- **Pouvoir pathogène :**

Klebsiella comporte actuellement cinq espèces responsables d'infection opportuniste hospitalière dont les localisations les plus fréquents sont respiratoires et urinaire. *Klebsiella pneumoniae* est l'espèce la plus fréquente, représentant 75 à 86% de *Klebsiella* qui cause nombreuses épidémies nosocomiales (**Hansen et al., 2004**), notamment chez les personnes ayant un système immunitaire affaibli, comme les diabétiques et les alcooliques. Elle peut transmettre rapidement entre les patients hospitalisés surtout dans des unités de soins intensifs adultes ou pédiatriques (**Belbel, 2014**).

5.3. *Serratia* :

C'est une bactérie nommé d'après Serafino Serrati un physicien italien, elle conforment à la définition générale des entérobactéries. Les espèces de ce genre sont des bâtonnets droits, de 0,5–0,8 × 0,9–2,0 µm de long, avec des extrémités arrondies (**Grimont et Grimont, 2015**).

La plupart des *Serratia* sont mobiles par des flagelles péritriches et sont anaérobies facultatifs chimioorganotrophes avec un métabolisme à la fois respiratoire et fermentaire (**Van Houdt et al., 2007**). Le genre *Serratia* comprend plusieurs espèces, le moins communément isolée est *S.odorifera*. Cette espèce a été isolée de champignons cultivés et d'échantillons cliniques (**Lee et al., 2006**).

- **Habitat :**

On trouve *Serratia* dans le tube digestif des petits mammifères et des insectes ainsi que dans l'eau, le sol, les légumes et les champignons. Egalement on le trouve comme :

- Commensale dans la flore intestinale humaine.
- Pathogènes opportunistes impliqués dans des infections nosocomiales (**Carip, 2008**).

- **Pouvoir pathogène :**

Le germe est sensible à la plupart de désinfectants usuels mais peut résister pendant plus d'un mois dans les poussières et jusqu'à cinq jours sur le papier (**Carip, 2008**). *Serratia* peut causer une infection humaine qui se manifeste par une pneumonie potentiellement grave. De plus, il provoque une infection urinaire, un ostéomyélite et un endocardite (**Van Houdt et al., 2007**). *S.odorifera* peut provoquer des maladies graves, y compris un choc septique, en particulier chez les patients souffrant de maladies chroniques sous-jacentes (**Lee et al., 2006**).

5.4. Raoultella :

Raoultella a été déplacés dans un genre distinct du genre *Klebsiella* dans 2001. À cause de la hausse du nombre des rapports d'infections cliniques par les espèces de *Raoultella* donc c'est une pathogène émergents (**Yu et al., 2019**).

Ce genre a été nommé d'après la bactériologiste française Didier Raoult. Il comprend des organismes anaérobies facultatifs de Gram négatif, oxydase-négatif, il est basé sur l'analyse phylogénétique des gènes de l'ARN 16s (**Schicklberger, 2015**).

Cependant, il existe quelques caractéristiques métaboliques présentant chez certaines espèces, mais pas dans d'autres, et sont donc utiles pour leur distinction, telles que le test indole, la croissance à 10 ° C, la production d'histamine, le test de la melonzitose. Parmi ces espèces *Raoultella planticola* et *Raoultella terrigena* (**Appel et al., 2021**).

- **Habitat :**

Ce sont des bactéries ubiquitaire trouvent partout dans la nature, peuvent coloniser l'homme et l'animal et généralement considérée comme une bactérie environnementale, elles sont isolées principalement des sites environnementaux tels que les environnements botaniques et aquatiques (**Fazal et al., 2019**).

- **Pouvoir pathogène :**

Outre la récente augmentation des rapports de cas des infections de *Raoultella* humains, on sait peu de choses sur la véritable épidémiologie de ces infections.

Certaines études n'ont signalé que des cas de sang, de voies respiratoires, poly-microbiennes ou d'infections de tractus biliaires (**Appel et al., 2021**).

5.5. *Enterobacter* :

Au cours des trois dernières décennies dans les services hospitaliers, les *Enterobacter* sont signalés comme d'importances pathogènes bactériens opportunistes et multirésistantes pour l'homme et un agents pathogènes bien connu pour les maladies des plantes (**Wu et al., 2020**). Ce genre est un des bactéries Gram-négatives, anaérobies facultatives, en forme de bâtonnets, non sporulées, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*.

En.cloacea est une espèce présente sous forme de microflore commensale dans le tractus intestinal des humains et des animaux (**Davin-Regali et Pages, 2015**).

- **Habitat :**

Enterobacter est largement fréquenté dans la nature, aussi il fait partie de la microflore commensale de l'intestin humain (**Wu et al., 2020**). L'espèce *Enterobacter cloacae* est ubiquitaire, se trouve dans les environnements terrestres et aquatiques (eau, eaux usées, sol et nourriture) (**Davin-Regali et Pages, 2015**).

- **Pouvoir pathogène :**

Ce genre est décrit comme le principal contributeur au problème des infections humaines. *En.cloacae* est un agent pathogène nosocomial bien connu qui contribue à la bactériémie, à l'endocardite, à l'arthrite septique, à l'ostéotomie respiratoire et aux infections de la peau/des tissus mous, ainsi qu'aux infections des voies urinaires inférieures et intra-abdominales (**Davin-Regali et Pages, 2015**).

6. Sensibilité aux antibiotiques:

En considérant comme souche résistante une souche non sensible, c'est-à-dire une souche catégorisée résistante ou intermédiaire (**Gangoue, 2007**).

Les entérobactéries possèdent des résistances naturelles vis-à-vis des grandes familles d'antibiotiques hydrophobes telles que :

- Bêta -lactamine (péniciline G, péniciline V ...).
- Les lincosamide (lincomycine...).

- Glycopeptides (teicolplanine, vancomycine..).
- Macrolides (erythromycine).
- Synergistines (pristinamycine).

Certaines d'entre elles sont naturellement résistantes à d'autres molécules par exemple : *Proteus* et *Serratia* sont résistant à la colistine, *Klebsiella* est résistante à l'ampicilline. Ces résistances naturelles définissent les phénotypes dits «sauvage» (Akel, 2014).

Chapitre 02 :

Résistance aux

antibiotiques

1. Les antibiotiques :

Pour lutter l'envahissement des microorganismes pathogènes, l'homme a apparu des agents physiques (Température, Rayonnement...) et chimiques (l'alcool, chlore et dérivés...). Même si sont efficace, mais ils sont très nocifs pour les cellules humaines ou animales. Donc, l'homme a élaboré d'autre agents possédants une "toxicité sélective" pour lutter les bactéries nuisibles sans nuire aux cellules de l'hôte. C'est l'antibiothérapie (**Benzeggouta, 2005**).

1.1. Définition:

Les bactéries ou les champignons sont capable de produire des substances afin de se défendre vis-à-vis des microorganismes en compétition pour leur environnement (**Adenot, 2000**).

Donc le terme "Antibiotique" est réservé aux molécules dont l'action est antibactérienne (**Carip, 2008**). Maintenant, il est employé dans un sens plus large qui inclure, en outre, toute substance synthétique ou semi synthétique dotée de ces propriétés (**Singleton, 2008**). Comme exemples:

- La Pénicilline est produite par un champignon "*Penicillium notatum*".
- Le Chloramphénicol est un antibiotique de synthèse chimique (**Yala et al., 2001**).

Les antibiotiques sont capables de combattre les bactéries en surface de l'organisme ou en profondeur, ils sont classés comme:

- Des bactéricides: bêtalactamine (famille de la pénicilline), aminosides (streptomycine) polymyxines, rifamycine (lutter les tuberculoses)...
- Des bactériostatique : phénicol (chloramphénicol, qui est utilisé à cause de sa toxicité importante), sulfamides, les nitro-imidazolés (antiseptique intestinal)...etc (**Carip, 2008**).

La chance de tuer les cellules humaines ou animales par l'effet toxique d'un antibiotique est presque inexistante, puisque une bactérie diffère à bien des égards d'une cellule eucaryote. Alors, cette toxicité sélective permet de traiter certaines maladies (**Singleton, 2008**).

Certains antibiotiques agissent contre un petit nombre d'espèces, tandis que d'autres sont actifs contre un large spectre d'organismes (**Singleton, 2008**). Donc pour utiliser une antibiothérapie correcte, il faut connaître le spectre d'activité antibactérienne. Cette activité doit être régulièrement révisée en fonction de l'évolution du niveau de résistance des bactéries (**Martin, 1999**).

1.2. Mode d'action :

L'antibiotique active souvent comme analogue grâce à son structure chimique similaire à celle d'un composé naturel qu'utilisent habituellement les bactéries, mais il existe une différence structurale qui permet de bloquer certaine réaction (**Martin, 1999**).

Contrairement aux antiseptiques, les antibiotiques agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises.

Pour mettre en action, il doit se lier à des cibles moléculaires spécifiques, selon ces cibles on peut distinguer cinq modes d'action d'antibiotiques (Figure 01) (Goro, 2021) :

a. Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne :

Le blocage de la synthèse des parois bactériennes aboutit à la lyse de ces cellules, bref à leur mort. Parmi les substances agissant selon cette modalité, il y a les : pénicillines et les céphalosporines.

b. Interaction avec la membrane plasmique :

Certaines substances antibactériennes interagissent avec les membranes plasmiques des cellules bactériennes en modifiant leur perméabilité. Ceci entraîne des conséquences fatales pour ces cellules. Les tyrothricines et polymyxines opèrent de cette manière.

c. Perturbation de la synthèse protéique :

Le fait d'entraver la synthèse protéique dans une bactérie signifie que les enzymes indispensables à la survie de cette cellule ne peuvent plus être fabriqués. Parmi les substances qui inhibent la synthèse des protéines, on citera les tétracyclines, rifamycines et les aminoglycosides.

d. Inhibition de la transcription et de la réplication de l'ADN :

Le dérèglement du fonctionnement de l'ADN empêche la cellule de se diviser et/ou la synthèse des indispensables enzymes. Comme substances agissant de la sorte, il y a, entre autre, l'acide nalidixique et la proflavine.

e. Perturbation du métabolisme cellulaire :

Les substances antibactériennes qui entravent le métabolisme cellulaire sont appelées des antimétabolites. Ces composées inhibent les métabolismes du micro-organisme ciblé, mais pas celui de l'hôte. Pour ce faire, ils bloquent une réaction enzymo-catalysée qui doit se réaliser dans la cellule bactérienne mais pas dans les cellules animales. Les exemples les mieux connues de substances antibactériennes qui agissent de la sorte sont ceux des sulfonamides (Patrick, 2002).

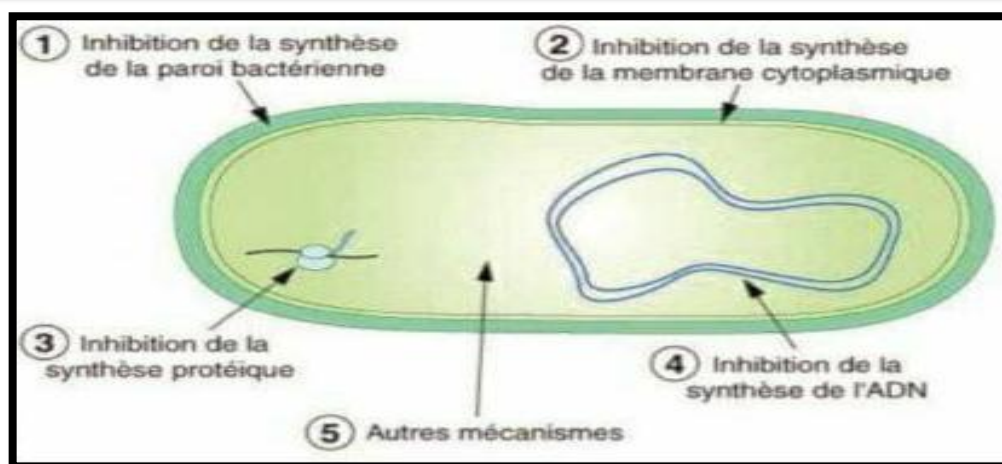


Figure 01 : Les modes d'action d'antibiotiques. (Goro, 2021)

2. β -lactamines :

2.1. Définition :

À l'heure actuelle, les molécules les plus utilisées dans le traitement des infections dues aux entérobactéries sont les β -lactamines (Robin *et al.*, 2012), qui représentent une famille majeure d'antibiotique capable d'inhiber la synthèse de la paroi bactérienne (Cattoir et Bicêtre, 2008).

La nomination de cette famille est due à tous les antibiotique qui portent une fonction lactame en position β , associé à des cycles de chaînes latérales variables qui montrent les propriétés pharmacocinétiques et le spectre d'activité (Figure 02) (Bentabet, 2021).

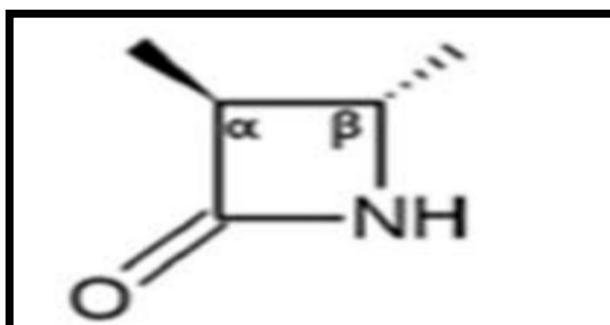


Figure 02: Noyau β -lactame (Bouguenoun, 2017).

2.2. Classification des β -lactamines :

La caractéristique commune à ces antibiotiques est un noyau β -lactame (en rouge) (Figure 03). En dehors des monobactames, l'anneau β -lactame est couplé à un autre cycle propre à chaque classe d'antibiotiques (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes). Au sein d'une classe d'antibiotiques, les chaînes latérales (R, R' et R'') permettent de distinguer les différentes molécules.

Il peut exister des chaînes latérales similaires entre différentes classes d'antibiotiques (Comte *et al.*, 2012).

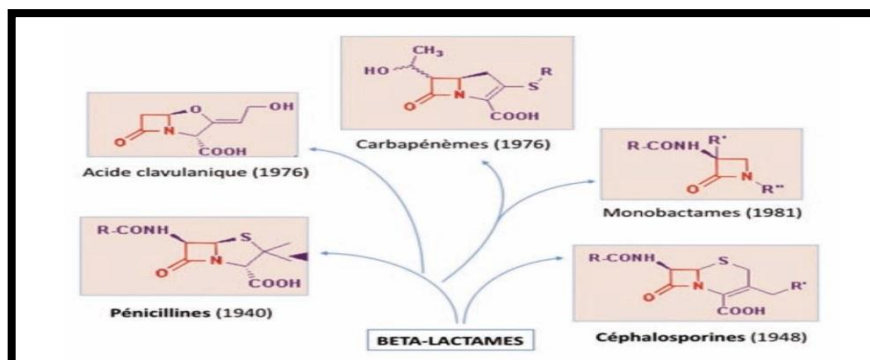


Figure 03: Classes d'antibiotiques à base d'anneau β -lactame (Comte *et al.*, 2012).

- **Les pénicillines :** (noyau pénème) dont font partie la pénicilline G, la méticilline et les isoxazolylpénicillines (oxacilline et cloxacilline), les aminobenzylpénicillines (ampicilline).
- **Les céphalosporines :** (noyau céphème) de première génération (céfalogine, céfaloridine) de deuxième (céfamandole, céfoxitine), de troisième (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et de quatrième génération (céfépime, ceftiprome).
- **Les monobactames :** (noyau azétidine) représentés par l'aztréonam.
- **Les carbapénèmes :** (noyau carbapénème) qui sont les plus efficaces actuellement (imipénème, méropénème, ertapénème, doripénème) (Gadou, 2019).

2.3. Mécanisme :

Les bêtalactamines sont fortement bactéricides, très bien tolérés et fréquemment prescrit dans le traitement des infections sévères (Martin, 1999).

Ces molécules fixent sur les protéines liant les Pénicillines (PLP) qui se trouvent à la surface de la paroi bactérienne (Gadou, 2019). Ces PLP sont des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane (Cattoir et Bicêtre, 2008).

La fixation est facilitée parce que les β -lactamines présentent une analogie structurale entre le noyau β -lactame et le dipeptide terminale D-alanyl-D-alanine. Après la fixation, les β -lactamines ouvrent le cycle de PLP et inactivent le fonctionnement de ces enzymes. À cause de cette inactivation, les inhibiteurs des autolysines bactériennes sont bloqués, ce sont ces autolysines qui vont alors dégrader le peptidoglycane. Finalement la lyse bactérienne est déclenchée sous l'effet d'auto-suicide (Gadou, 2019).

3. Résistance aux β -lactamines :

3.1. Notion de la résistance bactérienne :

La résistance bactérienne est un véritable problème de santé publique ; à l'heure actuelle la menace la plus importante est observée chez les entérobactéries (Armand-Lefèvre, 2017). Selon la définition microbiologique de l'expression résistance bactérienne aux antibiotiques une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées (Muylaert et Mainil, 2012). Les bactéries sont dites multirésistantes aux antibiotiques (BMR) lorsque du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre limité d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (Bertholom, 2013).

3.2. Type de résistance :

Les entérobactéries sont soit naturellement résistantes (exemple: les *Klebsiella sp* sont toujours résistantes à l'ampicilline), soit elles ont une résistance acquise (Lagha, 2015) :

- **Résistance intrinsèque :**

La résistance intrinsèque ou naturelle est présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Elle délimite le spectre d'action des antibiotiques.

- **Résistance acquise :**

La résistance acquise n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre. Elle peut être acquise soit par des mutations dans le génome, soit par l'acquisition d'information génétique étrangère (Courvalin, 2008).

3.3. Mécanisme de la résistance des entérobactéries aux bêta-lactamine :

Les entérobactéries ont développé des mécanismes à large spectre de substrats, qui leur permettent de résister simultanément à diverses classes d'antibiotiques et de devenir ainsi multirésistantes. Il existe quatre principaux mécanismes de résistance aux β -Lactamines (Figure 04) (Courvalin, 2008):

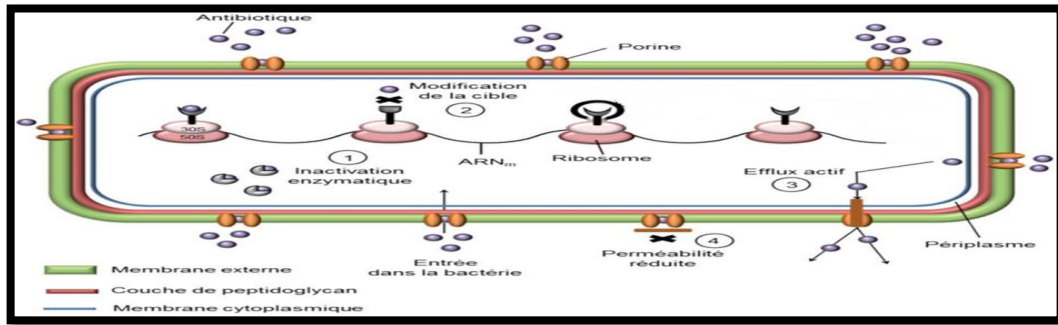


Figure 04: Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (Muylaert et Mainil, 2012).

a. La diminution de la perméabilité membranaire:

La diminution de la perméabilité représente un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries Gram négatives et plus précisément chez *Enterobacteriaceae* qui contiennent une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable (Figure 05). (Muylaert et Mainil, 2012).

La couche phospholipidique de la membrane externe forme une barrière empêchant la pénétration des antibiotiques hydrophobes entraînant ainsi une résistance naturelle (Gadou, 2019), mais les β -lactamines (antibiotiques hydrophiles) pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines. Alors des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques (Muylaert et Mainil, 2012).

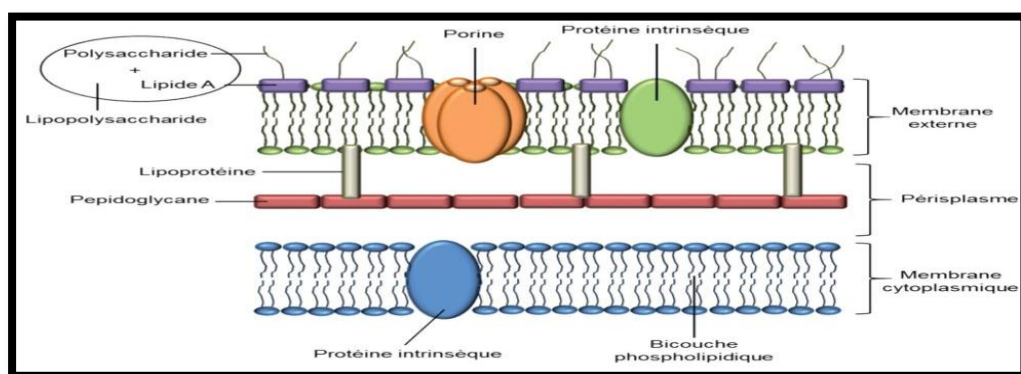


Figure 05: Structure de la paroi des entérobactéries (Muylaert et Mainil, 2012).

b. L'excrétion de l'antibiotique par des systèmes d'efflux:

Les pompes à efflux sont des pompes métaboliques assurant l'expulsion active des produits toxiques comme les antibiotiques, en utilisant une force proton-motrice.

L'implication des systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines a été clairement

identifiée dans plusieurs études en particulier chez *K. pneumoniae* (Robin *et al.*, 2012). La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (Muylaert et Mainil, 2012).

c. La modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP):

Les PLP sont des cibles physiologiques des antibiotiques de la famille des β -lactamines (Bouguenoun, 2017). Des modifications des PLP par mutation ont été impliquées dans la résistance aux β -lactamines (Robin *et al.*, 2012).

d. L'inactivation de l'antibiotique par production de β -lactamases:

Le principal mécanisme de résistance des entérobactéries aux β -lactamines est la production de β -lactamases. Elle est observée naturellement dans la plupart des espèces (Robin *et al.*, 2012).

4. Les β -lactamases :

4.1. Définition :

La résistance bactérienne aux β -lactamines est due principalement à la production d'enzymes β -lactamases capables d'hydrolyser le pont amide du cycle β -lactame commun à cette classe d'antibiotiques pour donner un acyl-enzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006 ; Lagha, 2015).

Les β -lactamases sont des enzymes d'inactivation, appartenant à la grande famille des hydrolases d'amides cycliques (Philippon, 2005; De Wals, 2007). Les gènes qui codent pour ces enzymes sont d'origine chromosomique ou plasmidique. Ces dernières ont été détectés sur des transposons et des intégrons facilitant ainsi le transfert horizontal de ces gènes entre espèces phylogéniquement éloignées (Gangoue, 2007).

4.2. Classification :

Les deux schémas les plus utilisés pour la classification des β -lactamases aujourd'hui sont celui d'Ambler qui est fondé sur l'homologie de séquence des acides aminés et celui de Bush-Jacoby-Medeiros fondé sur les propriétés fonctionnelles des enzymes (Nordmann et Poirel, 2002).

a) Classification d'Ambler :

Elle est proposée en 1980 et basée sur la structure primaire de l'enzyme, notamment la séquence primaire en acide aminés d'éléments conservés du site actif. Elle individualise quatre classes moléculaires A, C, D (appelées sérines enzymes) et B (dont les enzymes comportent deux atomes de zinc au niveau de leur site actif) (**Belbel, 2014**).

- **Classe A :**

Les β -lactamases de la classe A sont les plus diversifiées, on y retrouve les pénicillinases des bactéries à Gram positif, les β -lactamases plasmidiques à large spectre qui hydrolysent les céphalosporines avec autant d'efficacité que les pénicillines, les β -lactamases à spectre élargi qui hydrolysent les C3G et les monobactames. La majorité de ces enzymes sont sensibles aux inhibiteurs (acide clavulanique, sulbactame et tazobactame) utilisés en médecine. Les principaux représentants de ce groupe sont les β -lactamases du type TEM, SHV et récemment le type CTX-M (**Doi et al., 2004**).

- **Classe B :**

Les β -lactamases de classe B sont des métallo- β -lactamases et utilisent un ion de zinc (Zn^{2+}) comme cofacteur. La plupart de ces métallo-bêta-lactamases hydrolysent une variété de pénicillines et de céphalosporines, et sont insensibles aux inhibiteurs suicides classiques.

L'importance clinique des métallo-bêta-lactamases est liée au fait qu'elles hydrolysent les carbapénèmes, c'est un composé qui échappent à l'activité des bêta-lactamases à sérine active (**Lagha, 2015**).

- **Classe C :**

Les β -lactamases de la classe C on retrouve les céphalosporinases qui sont des enzymes résistantes à l'action de l'acide clavulanique et le sulbactame ; toutefois certaines sont faiblement inhibées par le tazobactame (**Doi et al., 2004**). Leur hyperproduction est associée au phénotype de multirésistance observé chez certains BGN.

Au départ à médiation chromosomique, les β -lactamases de la classe C sont aussi aujourd'hui à médiation plasmidique (**Philippon, 2005**).

- **Classe D :**

Les β -lactamases de classe D se distinguent par leur capacité à hydrolyser les pénicillines isoxazolyl (oxacilline) et la méthicilline, qui sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique (**Lagha, 2015**).

b) La classification de Bush :

En 1995, Bush-Jacoby-Medeiros a présenté le dernier système de classification qui est basé sur les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse. Cette classification repose sur quatre groupes (1 à 4) avec plusieurs sous-groupes (Annexe 01) (**Lagha, 2015 ; Shah et al., 2004**).

Le groupe 1 contient les β -lactamases chromosomiques de la classe C (type AmpC). Les bactéries produisant de telles β -lactamases sont résistantes à bas niveau aux pénicillines, aux inhibiteurs de β -lactamases, à la ceftioxime (en fonction des espèces). La production de ces enzymes est inductible par différents antibiotiques parmi lesquels: la ceftioxime, l'acide clavulanique ou encore l'imipénème.

Le groupe 2 est de loin le plus vaste et comporte des β -lactamases le plus souvent inhibées par l'acide clavulanique. La plupart de ces enzymes ont un support plasmidique et toutes appartiennent à la classe moléculaire A, exceptées les oxacillinases qui appartiennent à la classe D.

Le groupe 3 regroupe les métallob- β -lactamases de la classe B conférant la résistance à la quasi-totalité des β -lactamines (carbapénèmes, céphalosporines et pénicillines) exceptés les monobactames et sont inhibées par les agents chélateurs (EDTA) mais pas par l'acide clavulanique.

Le groupe 4 rassemble moins d'une dizaine d'enzymes, peu rencontrées à ce jour, insensibles à l'acide clavulanique et ne pouvant être classées parmi les autres groupes (**Belbel, 2014**).

4.3. Mode d'action :

Les β -lactamases sont des enzymes d'inactivation localisées au niveau l'espace périplasmique chez les bactéries à Gram négatif (**Lagha, 2015**). Ils ont une structure proche des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane de la bactérie. Le mode d'action des β -lactamines sur une bactérie sensible consiste à entraîner une erreur des peptidases aboutissant à un défaut de synthèse du peptidoglycane. Pour éviter que les peptidases ne se trompent pas la bactérie synthétise une β -lactamase qui va hydrolyser le cycle β -lactame (Figure 06), son ouverture va empêcher sa reconnaissance par la peptidase donc la synthèse du Peptidoglycane est possible : la multiplication bactérienne n'est alors pas affectée (**Lavigne et al., 2002**).

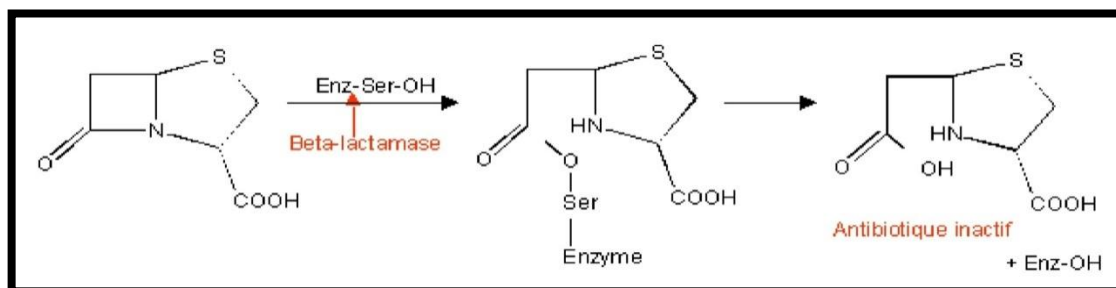


Figure 06: Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame. (Lagha, 2015).

5. Les β -lactamases à spectre élargie :

5.1. Définition :

Les BLSE sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A (À l'exception des BLSE de type OXA classe D) de la classification d'Amblar (Lagha, 2015). Ils sont des enzymes acquises par les entérobactéries leur permettant d'hydrolyser le noyau β -lactame, pour résister aux β -lactamines à l'exception des carbapénèmes et céphamycines et qui sont la cible des inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique (Fouquet *et al.*, 2012). Les gènes de structure sont portés par des éléments génétiques mobiles tels que des grands plasmides (100 kb ou plus), intégrons ou transposons. Ces éléments sont transférables entre souches de la même espèce ou entre espèces (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006).

La transmission, surtout plasmidique, de ce mécanisme de résistance aux antibiotiques est responsable de sa dissémination mondiale et de l'augmentation de sa prévalence (Fouquet *et al.*, 2012). *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont les deux espèces les plus fréquemment porteuses de ces mécanismes de résistance (Lagha, 2015).

5.2. Différentes types de BLSE :

Les types les plus fréquents de BLSE sont :

a) Type TEM :

Ce type a été signalé pour la première fois en 1965 à partir d'une souche d'*E.coli* provenant d'une patiente à Athènes, en Grèce, nommé *Temoneira*. Les BLSEs de type TEM sont des dérivés de TEM-1 et TEM-2.

➤ TEM-1 est capable d'hydrolyser l'ampicilline avec un taux plus élevé que la carbénicilline, l'oxacilline ou la céphalothine, et une faible activité contre les céphalosporines à spectre étendu.

➤ TEM-2 a le même profil hydrolytique que TEM-1, mais diffère de TEM-1 par un promoteur plus actif et par une différence de point isoélectrique (**Paterson et Bonomo, 2005**).

La plus part des BLSE de ce type dérivent par quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2) (**Lagha, 2015**).

b) Type SHV :

SHV fait référence à "Sulfhydryl Variable". Ce type peut être plus fréquemment retrouvé dans les isollements cliniques que tout autre type de BLSE (**Paterson et Bonomo, 2005**).

c) Type CTX-M :

Le nom CTX reflète la puissante activité hydrolytique de ces β -lactamases contre le céfotaxime (**Paterson et Bonomo, 2005**).

Ces nouvelles BLSE ne sont pas étroitement liées aux autres types, puisqu'elles ne présentent que 40 % d'homologie avec ces BLSE classiques (TEM, SHV) (**Lagha, 2015**).

d) Autres types :

Il y a autres types de BLSE qui ont une distribution moins large, caractérisées par un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois à l'aztréonam plutôt qu'au céfotaxime. Elles sont individualisées en BES-1, GES-1, PER-1... (**Lagha, 2015**).

5.3. Epidémiologie des β -lactamases à spectre élargi:

Les premières entérobactéries productrices d'une bêta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE) ont été décrites en 1983 en Allemagne: il s'agissait de trois souches de *Klebsiella pneumoniae* et une souche de *Serratia marcescens* (**Fontaine, 2018**). Au début, Les BLSEs ont été détectés en Europe de l'Est et en Amérique du Sud, ensuite disséminés dans le monde entier (**Eddair, 2021**).

Les types CTX-M, TEM et SHV ont largement été diffusées dans le monde avec des prévalences variables selon les pays. Ces variations dépendent de plusieurs facteurs parmi lesquels :

- La détection de ces enzymes.
- La mesure de surveillance des maladies infectieuses.
- L'utilisation abusive des antibiotiques (**Gadou, 2019**).

Une base de données de surveillance mondiale récente, collectée en Europe, en Amérique du Nord et du Sud et en Asie, a déclaré que les fréquences de détection des isolats de *K. pneumoniae* et d'*E.coli* producteurs de BLSE étaient respectivement de 7,5 à 44% et de 2,2 à 13,5% (Figure 07).

En Algérie, différentes études pour enquêter sur les échantillons bactériens ont été mené au sein des hôpitaux algériens.

Une d'elles a pu indiquer que la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE a été trouvée entre 16,4 et 99%, dont les BLSE de classe A étaient les plus courantes et présentaient le plasmide codant AmpC (pAmpC) (Eddair, 2021).

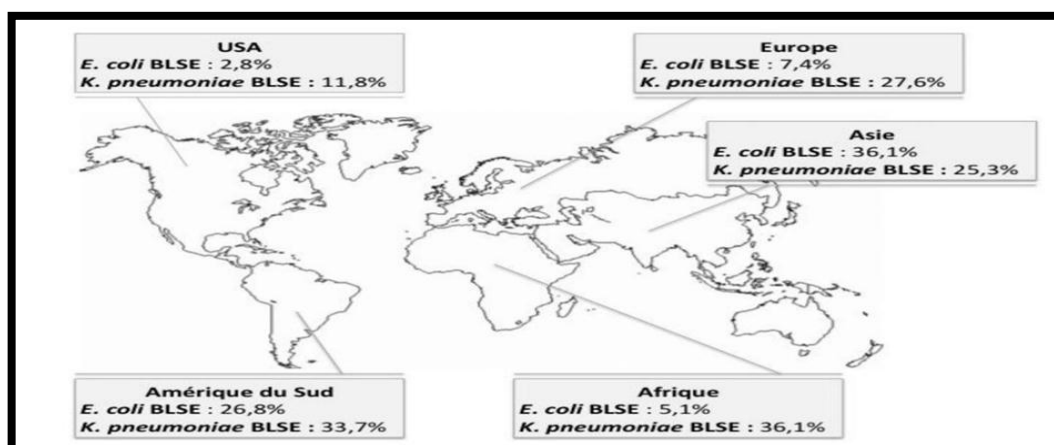


Figure 07: Prévalence des d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi dans le monde (Vodovar *et al.*, 2013)

Chapitre 03:

Les huiles essentielles

1. Les huiles essentielles :

1.1. Introduction :

Depuis la plus haute antiquité, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle à l'homme pour se soigner (**Thony, 2018**). L'OMS a déclaré qu'une grande proportion de la population (plus de 80% dans certaines régions du monde) utilise toujours les plantes pour leurs propriétés curatives et préventives (**Dalia et Benkhemissa, 2020**).

L'utilisation de l'aromathérapie était déjà connue aux temps des Egyptiens qui les employaient pour embaumer leurs morts et également pour parfumer et conserver les aliments. De plus, en Chine, en Inde et en Perse, les aromes utilisaient en médecine pour soigner divers maux. La redécouverte des huiles essentielles aura lieu au XX^{ème} siècle grâce au chimiste René-Maurice Gattefossé (1881 – 1950), chimiste qui créera par la suite le terme : « aromathérapie ». Durant la première Guerre Mondiale, il utilisa les huiles essentielles pour soigner des plaies, accélérer la cicatrisation et prévenir la gangrène. Le docteur Jean Valnet (1920 – 1995) fit pareil durant la Seconde Guerre Mondiale. Aujourd'hui, l'utilisation de l'aromathérapie est devenue courante (**Thony, 2018**), une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, a recours à la médecine traditionnelle en se référant uniquement aux plantes aromatiques pour leurs soins de base. (**Alejo-Armijo et al., 2017**).

1.2. Définition :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires (**Guinoiseau, 2010**), volatile, odorante, non grasse, extraite d'un végétal sous forme liquide. Elle provient d'une sécrétion élaborée par la totalité de la plante aromatique, voire plus spécifiquement certains de ses organes (racine, écorce, feuille, fleur, fruit, graine...) seront sélectionnés pour en extraire les composés aromatiques (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**). L'hydrodistillation reste le moyen le plus employé pour l'extraction des huiles essentielles, on peut aussi l'extraire par expression à froid, ou par vapeur d'eau (**Guinoiseau, 2010**). Ces huiles essentielles peuvent aider à lutter contre les infections se transmettant de plus en plus facilement. Grâce à leur pouvoir antiseptique, les huiles essentielles peuvent permettre d'assainir l'air ambiant ou les systèmes de ventilation et limiter ainsi la propagation des germes microbiens (**Billerbeck, 2007**).

1.3. Composition chimique:

Les huiles essentielles présentent des mélanges naturels très complexes qui peuvent contenir environ 20 à 60 composants à des concentrations très différentes (**Bakkali et al., 2008**). Ils sont

composées de deux grandes catégories de composés chimiques qui sont eux même regroupés en plusieurs sous catégories (Annexe 03) (Figure 08) :

- Les terpènes avec les composés associés
- Les composés aromatiques avec les composés qui en dérivent (Thony, 2018).

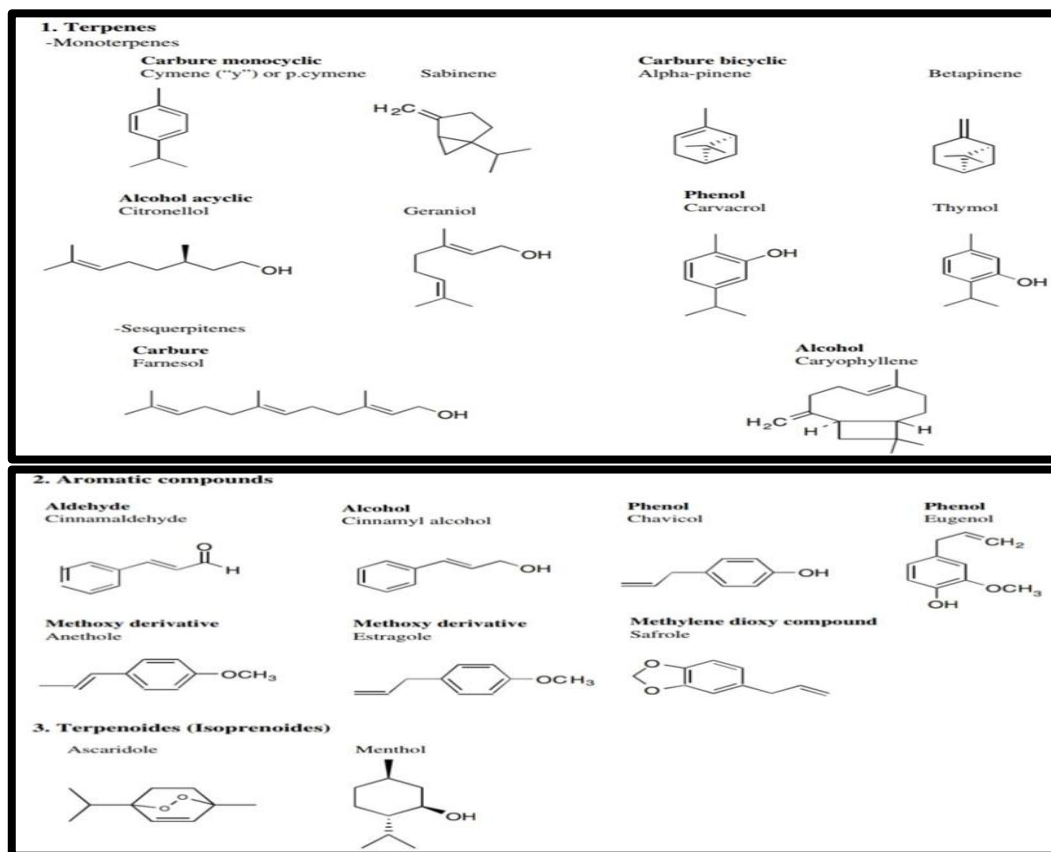


Figure 08: La structure chimique des compositions des huiles essentielles :

1 : Les terpènes 2. Les compositions aromatiques

(Bakkali *et al.*, 2008).

a) Les terpènes:

Les terpènes sont la famille biochimique la plus répandue des huiles essentielles, ils représentent l'exemple parfait de molécules odorantes non aromatiques. Ils ne sont composés que de carbones et d'hydrogènes (Figure 09).

Ils sont constitués à partir d'unités d'isoprènes (combinaison de plusieurs unités de 5 carbones) liées entre elles d'une façon tête queue. Ils sont synthétisés par la voie d'acétate.

Les monoterpènes et les sesquiterpènes représentent les principales classes des terpènes, ils existent également : les hémiterpènes (C5), diterpènes (C20), triterpènes (C30) et tétraterpènes (C40) (Fodil, 2021; Bakkali *et al.*, 2008).

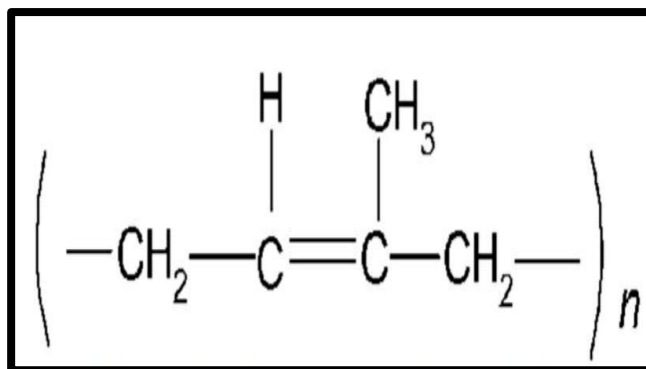


Figure 09: Groupement isopréniques (Thony, 2018).

- Les monoterpènes :

Les monoterpènes sont formés à partir du couplage de deux unités isoprène (C10) (Figure 10). Ce sont les molécules les plus représentatives, constituant 90% des huiles essentielles et permettant une grande variété de structures. Ils sont constitués de plusieurs fonctions : Carbures, Alcools, Monocycliques, Bicycliques, Aldéhydes... (Bakkali *et al.*, 2008).

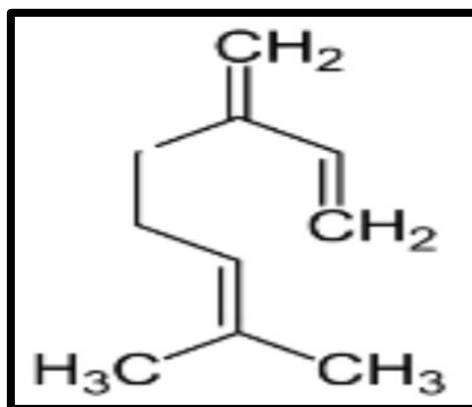


Figure 10: Composés monoterpéniques (Thony, 2018).

- Les sesquiterpènes :

Les sesquiterpènes sont formés à partir de l'assemblage de trois unités isoprène (C15). L'allongement de la chaîne augmente le nombre de cyclisations, ce qui permet une grande variété de structures. La structure et la fonction des sesquiterpènes sont similaires à celles des monoterpènes (Bakkali *et al.*, 2008).

b) Les composés aromatiques :

Ce groupe est caractérisé par la présence d'un cycle benzénique (ou cycle aromatique) (C6H6) qui se compose de 6 atomes de carbone et qui est stable grâce au déplacement des électrons sur les différentes liaisons atomiques que compte le cycle (Thony, 2018).

- **Les phénols aromatiques :**

Les phénols sont les molécules aromatiques avec le plus grand coefficient antibactérien et le plus large spectre. Il y'a des nombreux composés phénoliques dans les huiles essentielles, les principaux sont le thymol, le carvacrol et l'eugénol (**Fodil, 2021**).

1.4. Les propriétés biologiques des huiles essentielles :

Les vertus antimicrobiennes des huiles essentielles sont bien connues et bien documentées. En effet, de nombreux travaux de recherche ont mis en évidence leur puissante activité antiseptique agissant aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que les virus leur conférant ainsi diverses indications thérapeutiques.

a) L'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets :

- Effet bactéricide : exerçant une activité létale.
- Effet bactériostatique : entraînant une inhibition de la croissance, il est plus assimilable à l'huile essentielle que l'activité bactéricide.

Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides.

En effet, des dommages au niveau des cellules de différents microorganismes ont été rapportés par microscopie électronique.

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

- Précipitation des protéines et des acides nucléiques;
- Inhibition de la synthèse des macromolécules (ADN, ARN, protéines et peptidoglycanes)
- Inhibition de la perméabilité membranaire sélective et détérioration membranaire;
- Inhibition de la glycolyse et déplétion potassique;
- Modification de la morphologie de la cellule bactérienne;
- Absorption et formation d'un film autour de la cellule bactérienne avec inhibition des processus de respiration, d'absorption et d'excrétion (**Echchaoui, 2018**).

b) L'activité antifongique :

Les huiles essentielles sont également antifongiques, c'est à dire qu'elles éliminent les champignons et leurs spores. Cette propriété peut être très intéressante car la prise d'antibiotique

ne cesse d'augmenter et cela provoque une augmentation du nombre de mycoses. Par exemple laurier noble (*Laurus nobilis*) possède une forte action antifongique notamment sur la *Candida albicans*.

c) L'activité virale :

Les huiles essentielles ont une action sur les virus. Elles ne les détruisent pas car certains virus ne peuvent être éliminés. Ses composés aromatiques s'accrochent à la surface de toutes les cellules mêmes celles infestées par un virus. Elles empêchent celles-ci de s'accrocher aux cellules saines et empêchent ainsi la propagation virale. Elles ont une action sur la multiplication virale.

d) L'activité anti-inflammatoire :

Les huiles essentielles ont une action sur l'inflammation, elles la diminuent. Elles peuvent être utilisées dans différentes pathologies douloureuses comme l'arthrite. Le mode d'action est un peu complexe, elles inhibent certains médiateurs de la douleur qui sont les prostaglandines. Ces médiateurs sont produits lors de blessures diverses et c'est grâce à eux que l'humain ressent la douleur et l'inflammation (Thony, 2018).

1.5. Procédés d'extraction des HE :

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 :

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 11) (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 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).

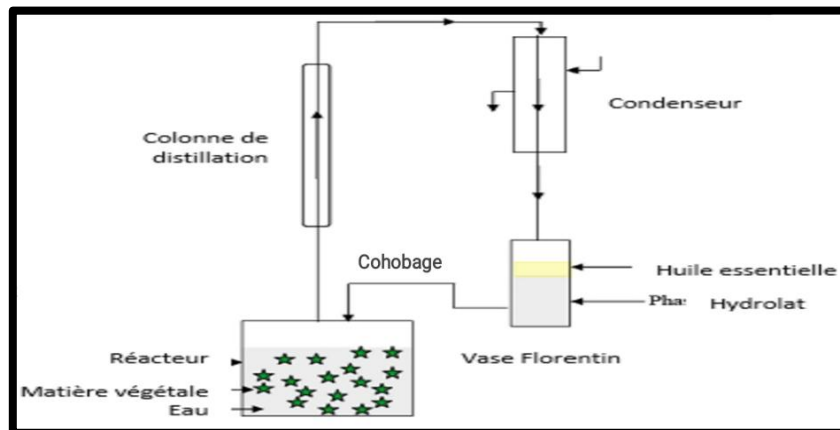


Figure 11: Principe schématisé de l'hydrodistillation (Boukhatem *et al.*, 2019).

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 12), 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 *et al.*, 2019).

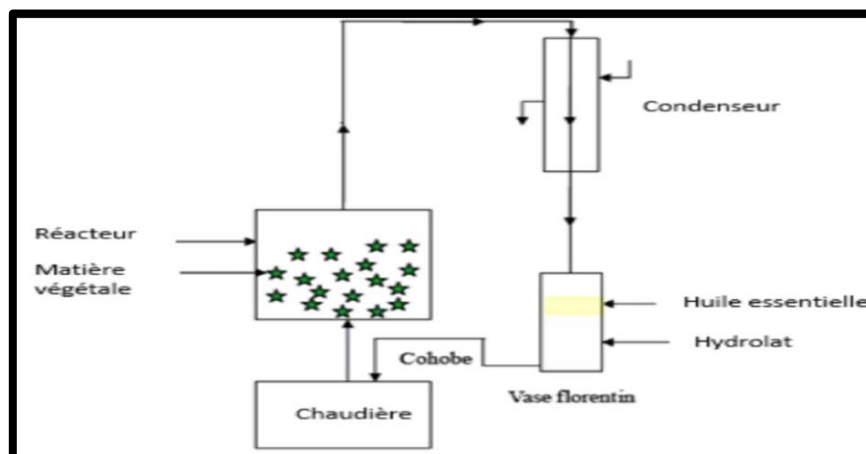


Figure 12: Principe schématisé de l'extraction par l'entraînement à la vapeur (Boukhatem *et al.*, 2019).

c) Expression à froid :

Cette extraction sans chauffage est réservée aux agrumes (Figure 13). 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).

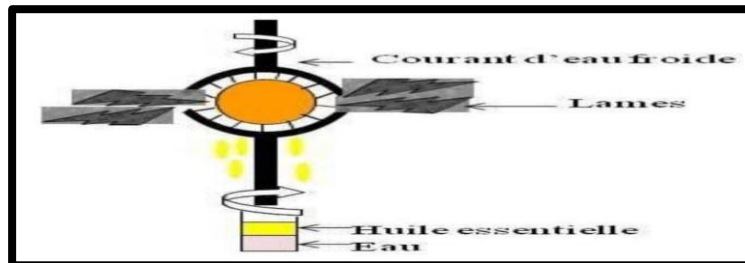


Figure 13: Extraction par expression à froid (Mnayer, 2014).

d) Extraction par solvant organique :

La technique d'extraction « classique » par solvant, basée sur le placement dans un extracteur, 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 14). 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).

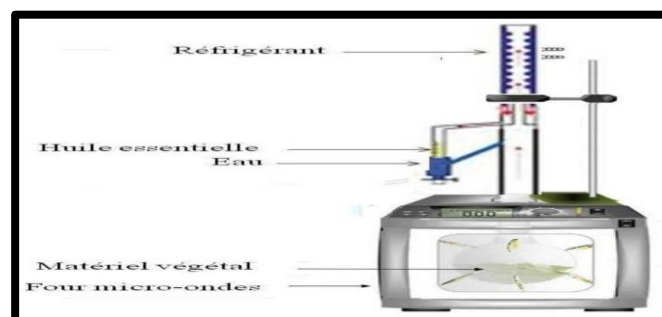


Figure 14: Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Mnayer, 2014).

1.6. Principaux domaines d'application :

En raison de leurs diverses propriétés, les H.E sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentées un grand intérêt dans divers secteurs industriels.

a) Aromathérapie :

L'aromathérapie est une forme de médecine alternative. Elles s'utilisent de plus en plus dans diverses spécialités médicales telles que : la podologie, l'acupuncture, la masso-kinésithérapie, l'ostéopathie, la rhumatologie ainsi que dans l'esthétique.

b) Agro-alimentaire :

Grace à leurs propriétés antiseptiques et aromatisants, les HEs sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, laurier, thym,...), elles sont également très prisées en liquoristerie (boissons anisées..), et en confiserie (bonbons, chocolat...) De plus, le pouvoir antioxydant de ces HEs permet la conservation des aliments en évitant les moisissures par les incorporées dans le matériel d'emballage alimentaire.

c) Cosmétologie et parfumerie :

Les HEs sont recherchées dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes. L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine...

Les HEs sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques: les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons....etc.

Les produits d'hygiène, détergents et lessives par exemple, consomment eux aussi beaucoup d'HEs pour masquer les odeurs (souvent peu agréables) des produits purs (**Ouis, 2015**).

d) Pharmacie :

Les huiles essentielles peuvent avoir un intérêt médicamenteux, en particulier dans le domaine des antiseptiques externes. Elles sont aussi employées pour aromatiser des formulations médicamenteuses destinées à la voie orale. Les plantes aromatiques sont aussi utilisées à l'état brut, en particulier pour les préparations d'infusion (menthe, mélisse, verveine, fleurs d'oranger, etc.), et sous la forme de préparations galéniques simples (**Randrianarivelo, 2010**).

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 (Annexe 04). 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 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) Place dans la systématique :

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

Tableau 04: Classification botanique de *L.nobilis* (Patrakar et al., 2012).

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

c) Nomenclature :

Français: Laurier noble (**Labiad et al., 2018**).

Anglais: The laurel (**Alejo-Armijo et al., 2017**).

Arabe: Rend (**Bendjersi et al., 2016**).

d) 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 et al., 2016**).

e) 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**).

• Les feuilles :

Les feuilles sont vertes, entières, de 8 à 12 cm de long, oblongues à lancéolées, sub-coriaces persistantes (Figure 15) (**Haddouchi et Benmansour, 2008**).



Figure 15: Les feuilles de laurier (**Marques et al., 2016**)

- Les fleurs :

Les fleurs sont de couleur jaunâtre, regroupées en petites ombelles (Figure 16) (Haddouchi et Benmansour, 2008). Les fleurs mâles ont 8 à 12 étamines avec deux glandes à la base. Les fleurs femelles ont 2 à 4 staminodes (Patrakar *et al.*, 2012).



Figure 16: Les fleurs de *L.nobilis* (Patrakar *et al.*, 2012).

- Les fruits :

Ce sont des baies noires, ovoïdes, ressemblant par ses formes et ses dimensions à une petite olive (Figure 17) (Haddouchi et Benmansour, 2008).



Figure 17: Les fruits de *L.nobilis* (Haddouchi et Benmansour, 2008).

f) Composition chimique :

En raison de la valeur commerciale des feuilles de laurier, la plupart des travaux rapportés sur la composition chimique du laurier se concentrent sur elles. L'huile essentielle de laurier est obtenue par la distillation de ses feuilles, il est sous forme de liquide jaune avec une odeur aromatique et épicée (Alejo-Armijo *et al.*, 2017). Les principaux composants de l'huile sont : 1,8-cinéole, acétate d' α -terpinyle, terpinène-4-ol, α -pinène, β -pinène, p-cymène, acétate de linalol, β -cymène, β longipinène, du cadinène, α -bulnesène, sabinène (Patrakar *et al.*, 2012). De plus, les fruits de laurier contiennent jusqu'à 30% de matières grasses (Alejo-Armijo *et al.*, 2017).

2.2.2. *Pimpinella anisum* :

a) Généralité :

L'anis vert ou bien *Pimpinella anisum*, c'est une plante aromatique qui appartient à la famille des *Apiaceae* (Ghouati *et al.*, 2012), compte 150 espèces regroupées en plusieurs genres à travers l'Europe et l'Afrique. L'anis est une herbacée cultivée annuelle, atteignant 30 à 70 cm de haut (Babulka, 2004). Les graines de cette plantes avaient été utilisé comme carminative, antispasmodique, antiseptique, expectorant et comme médicament contre le stress, la bronchite, l'indigestion et les poux.

Aujourd'hui, de nombreuses études démontrent que les extraits de fruits d'anis ont des effets thérapeutiques sur plusieurs pathologies telles que les troubles gynécologiques et neurologiques (Bekara *et al.*, 2015).

b) Place dans la systématique :

La systématique de l'anis vert est présentée dans le tableau suivant:

Tableau 05: Classification botanique de l'anis vert (Babulka, 2004).

Royaume	<i>Plantea</i>
Famille	<i>Apiacées</i>
Genre	<i>Pimpinella</i>
Espèce	<i>Pimpinella anisum</i>

c) Nomenclature :

Le nom scientifique : *Pimpinella anisum*.

Français : anis vert.

Anglais : anise.

Arab : Yansoon (Charles, 2013).

d) Origine et distribution :

L'Anis vert est traditionnellement cultivé par les agriculteurs (Ghouati *et al.*, 2012). Un peu par tous dans le monde, particulièrement en grande échelle en Espagne et en Russie. Il a son origine dans la partie orientale du bassin méditerranéen, au moyen Orient et en Égypte, aussi cette plante est bien appréciée en Afrique du nord (Bekara *et al.*, 2016). C'est une plante qui ne se trouve à l'état sauvage que dans certaines îles de la mer Égée (Babulka, 2004).

e) Description botaniques :

L'anis vert est une plante herbacée annuelle, à racine fuselée et à tiges cylindriques, creuses, grêles, finement striées et ramifiées au sommet atteindre de 50 à 70 cm de haut (Figure 18).

- **Les feuilles :**

Les feuilles sont de couleur vert vif, celle de base sont larges de forme arrondie ou lobée tandis que les feuilles vers le sommet sont découpées en lanières.

- **Les fleurs :**

Elles sont petites, radiales, actinomorphes formées de 5 sépales sans limbe de 5 petits pétales égaux, de 5 étamines saillantes et d'un ovaire infère bicarpellaire à 2 loges (**Boumahdi, 2014**), de couleur blanchâtres disposées en ombelles apparaissent en été donnant des fruits qui sont représentés par des graines d'environ 0,5cm (**Bekara et al., 2016**).

- **Les graines :**

Les graines sont des diakènes comprimées au niveau de la face dorsale. Leur aspect est ovales, pédiculées, allongées et de couleurs vert-grisâtre (Figure 19). À maturité les deux méricarpes se détachent l'un de l'autre (**Boumahdi, 2014; Bekara et al., 2016**).



Figure 18: La partie aérienne de l'anis vert (**Boumahdi, 2014**).



Figure 19: Les graines de l'anis vert (**Boumahdi, 2014**).

f) Composition chimique :

Le genre *Pimpinella anisum* contient un réservoir de produits chimiques avec une activité biologique unique (**Shukla et al., 1989**). Les huiles essentielles représentent entre 2,5 à 3,5 % de poids total de la graine, en addition ces dernières sont composées de : eau (9%), protéines (18%), polysaccharides (35%), lipides (15 – 20%), fibres brutes (15%), cendre (7%), ions essentiels (Potassium, calcium, phosphate et fer) (**Bekara et al., 2016**).

Partie II:

Revue expérimentale

Matériels et méthodes

1. Objectif générale :

L'objectif de ce travail est de contribuer à l'amélioration de la prise en charge de la résistance des entérobactéries productrice de BLSE, par l'étude de l'alternative naturelles disponible en Algérie aux agents antibactérienne de synthèse, représenté par les huiles essentielles de *Laurus nobilis* et *Pimpinella anisum*. Nous avons mis en place des études expérimentales pour évaluer l'effet inhibiteur de ces plantes vis-à-vis des souches bactériennes.

2. Cadre d'étude :

Ce chapitre est basé sur la description des différents matériels et méthodes expérimentales utilisés dans ce travail (Figure 20). 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-.

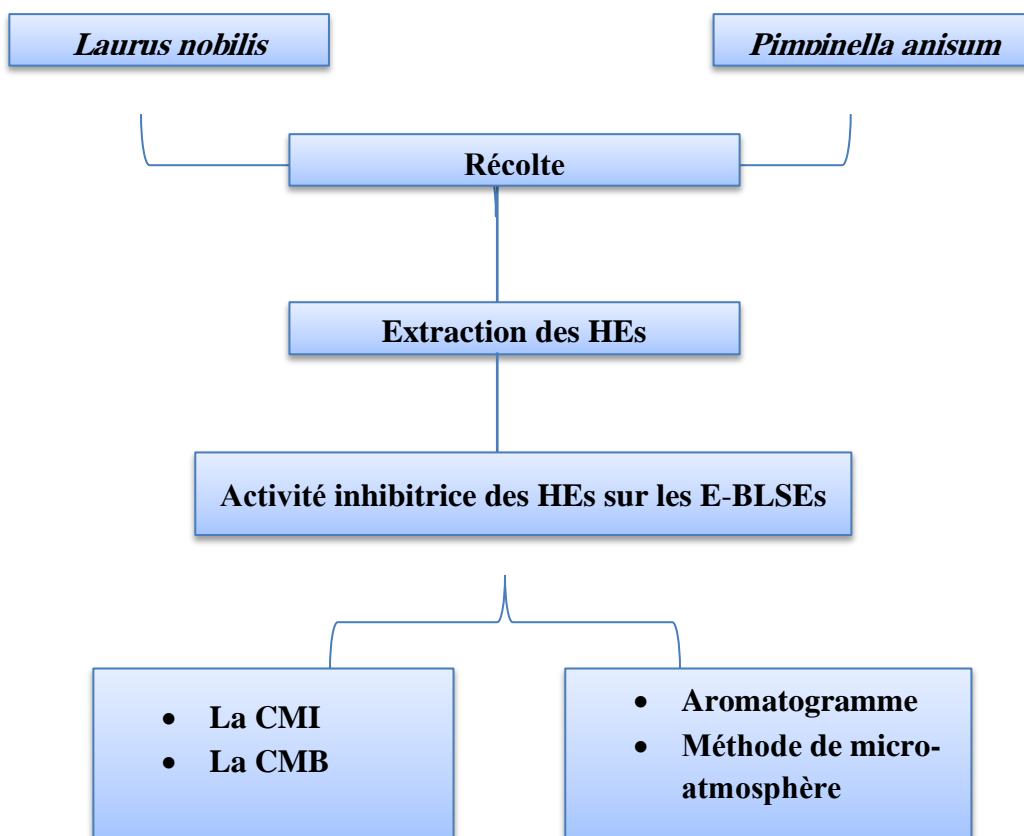


Figure 20: Plan générale de la partie expérimentale

3. Matériel et méthodes :

3.1. Matériel :

3.1.1. Matériel non biologiques :

Lors de la réalisation de nos expériences, aussi bien pour l'extraction des huiles essentielles de laurier et anis, 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.
- Des bouchons 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), bouillon nutritif, gélose nutritive).
- Ecouvillons.
- Verreries.
- Disques en papier (Wattman n°4).
- Tubes à essais.
- Micropipettes.
- Des microplaques à 96 puits.
- Eaux distillées et eaux physiologiques.

3.1.2. Matériels biologiques :

- **Matériels végétales :**

Collecter 3 kg des feuilles de *Laurus nobilis* ont été récoltées dans la région de Tébessa (Algérie) (Figure 21), durant le mois de Janvier, ensuite séché à l'ombre pendant une semaine.

Alors que les graines de *Pimpinella anisum* (Figure 22) achetées sur le marché de plantes aromatiques et médicinales de Tébessa (Algérie). Les huiles essentielles ont été par la suite extraites et ce sont elles qui ont sévi à réaliser la suite de l'étude.



Figure 21 : Morphologie de *Laurus nobilis*.



Figure 22: Morphologie de *Pimpinella anisum*.

• **Souches bactériennes:**

Les souches bactériennes : *Enterobacter cloacae*, *Raoultella ornithinolytica*, *Klebsiella pneumoniae* et *E.coli* multirésistantes aux antibiotiques et productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) ont été isolées et identifiées par M^{lle} Fares Roufaïda au niveau du laboratoire de recherche Molécules Bioactives et Applications (Tableau 06). La souche *Escherichia coli* ATCC 25922 appartient à la collection de notre laboratoire.

Tableau 06 : Les souches bactériennes utilisées et leurs origines.

Espèces	Profile d'antibiogramme																						Phénotypes de résistance détectés	
	AMX	PRL	TIC	TTC	AMC	CL	FOX	CAZ	CTX	CFM	FEP	ATM	IPM	ETP	AK	GN	TOB	OFX	CIP	NIT	FOS	COT		
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	Béta-lactamase à spectre étendu
<i>Raouletella ornitholytica</i>	R	R	R	R	R	R	S	I	R	R	R	R	S	I	S	R	R	R	R	S	S	R	Béta-lactamase à spectre étendu	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Béta-lactamase à spectre étendu
<i>E.coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	I	R	R	R	S	R	S	Béta-lactamase à spectre étendu	

S: sensible, R: résistante, I: intermédiaire.

AMC: Amoxicilline Acide Clavulanique, PIP: Piperacillin, AMX: Amoxicilline, TIC: Ticarcillin, TTC: Ticarcillin + acide Clavulanique.

CL: Cephalexin, CTX: Cefotaxime, CAZ: Ceftazidime, ATM: Aztreonam, IPM: Imipenem, FOX: Cefoxitin, AK: Amikacin, GM: Gentamicin.

TOB: Tobramycin, FOS: Fosfomycin, PRL : *Piperacillin*, FEP: Cefepim, CIP: Ciprofloxacin, NIT: Nitrofurantoin, COT: Cotrimoxazole.

ETP : Erthapenem, OFX: Ofloxacin, CFM : Cefexime.

3.2. Méthodes :

3.2.1. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles de *Laurus nobilis* et de *Pimpinella anisum* 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 23). 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 d'HEs traverse un serpentin ou elle se condense pour obtenir le distillat qui est constitué d'une eau florale avec l'huile essentielle.



Figure 23: Dispositif de l'hydrodistillation de type Clevenger.

b) Technique :

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

- 1- Peser 50g de la matière végétale (découper les feuilles de *LN* en petits morceaux et utiliser *PA* comme graine) et l'introduire dans un ballon d'une capacité de 1000ml, puis ajouter 500ml d'eau distillée.
- 2- Mettre ce ballon dans le chauffe-ballon ensuite introduire l'ouverture du dispositif dans le ballon (Figure 24).

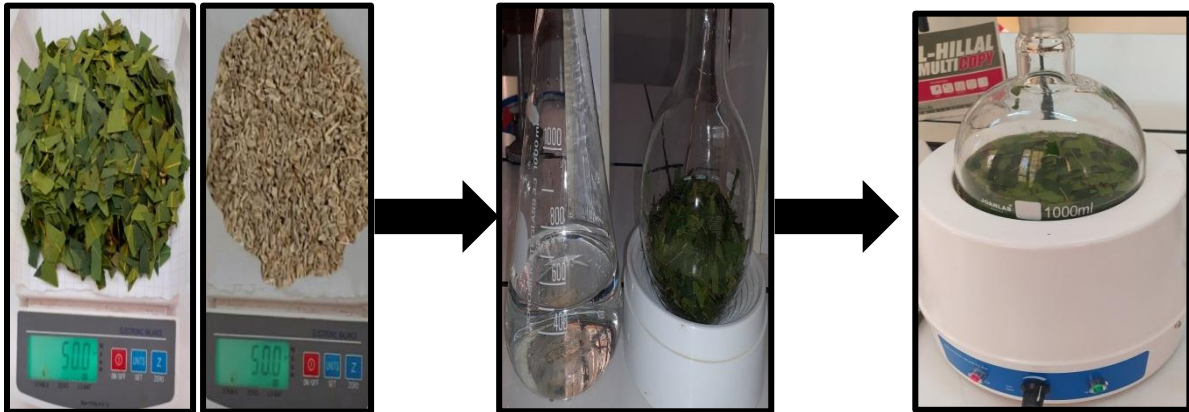


Figure (24) : Les premières étapes préalables à l'extraction de *LN*

- 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 deux 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 (Figure 25).

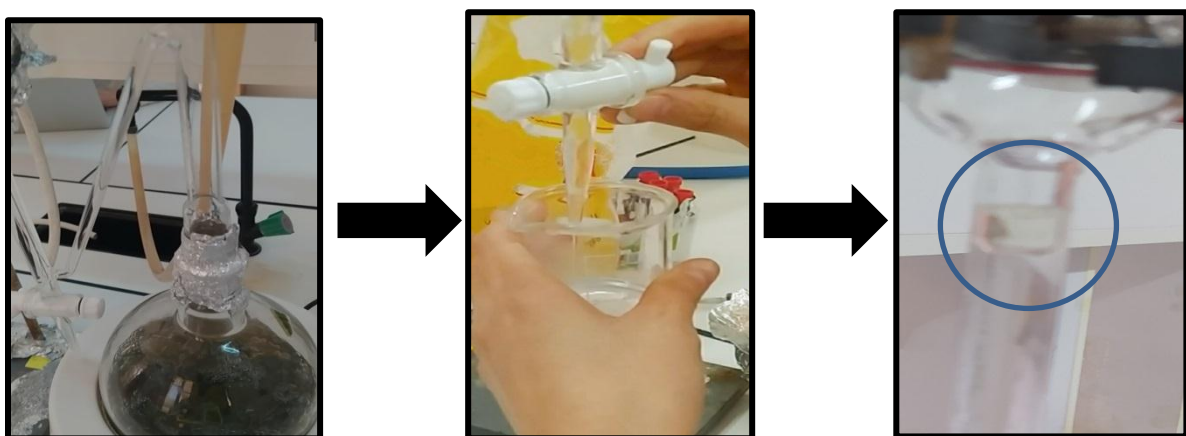


Figure 25: Les deuxièmes étapes préalables à l'extraction de *LN*.

Remarque : Les mêmes étapes ont été appliquées pour la deuxième plante

3.2.2. Revivification des souches bactériennes :

A partir des souches testées de notre collection, conservées dans du glycérol à -16°C , nous avons prélevé un petit volume à l'aide d'un écouvillon que nous avons par la suite trempé dans un tube de 10 ml de bouillon nutritif pour chaque souche dans une zone stérile. Les tubes ont été incubés pendant 24h à 37°C .

3.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles :

a) Aromatogramme : La méthode de Vincent :

- **Technique :**

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été testée par la méthode de diffusion de disque en milieu gélosé selon les recommandations de la Comité National pour les Normes de Laboratoire Clinique (NCCLS 2001)

Des cultures bactériennes jeunes pour les souches d'entérobactéries productrices de BLSE ont été mises en suspension dans l'eau physiologique (0,9 % NaCl) à des concentrations de 10^8 CFU/ml (0,5 McFarland) (Figure 26). Ces inoculum ont été étalés avec des écouvillons stériles sur la surface de boîtes de Pétri contenant de la Mueller-Hinton Agar (Figure 27).



Figure 26: Préparation des suspensions.

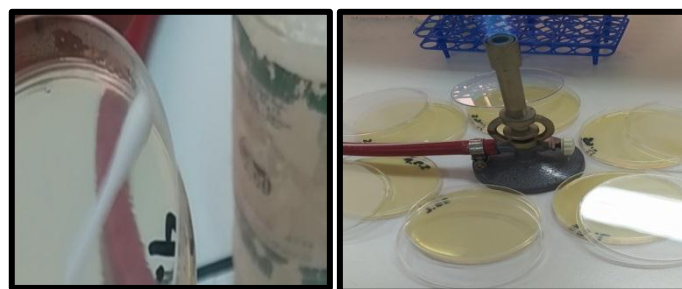


Figure 27: Ensemencement des souches.

Ensuite, des disques de papier (Wattman n°4) stériles de 6 mm de diamètres ont été disposés sur la plaque et 10 µl d'HE ont été ajoutés à chaque disque (Figure 28). Les boîtes de Pétri ont été maintenues à 4°C pendant 1 h, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 h. (Da Silva Dannenberg *et al.*, 2019 ; Chebaibi *et al.*, 2016).

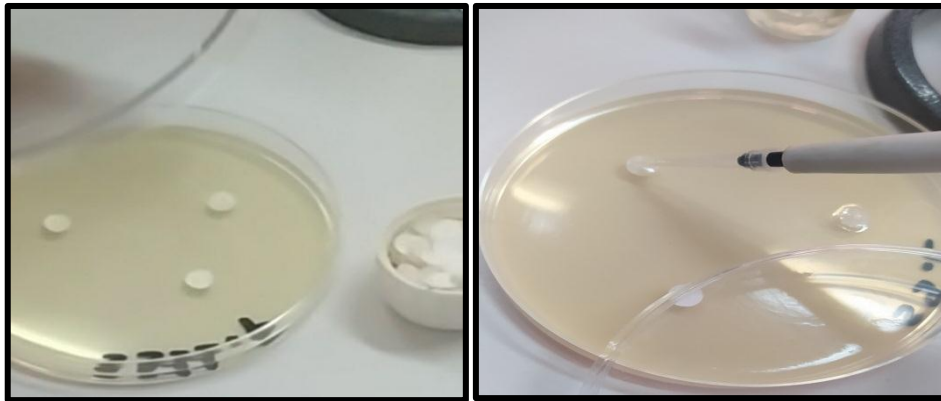


Figure 28 : Dépôt des disques et de l'huile essentielle.

Le test a été réalisé avec trois répétition pour chaque souche et le contrôle de qualité a été réalisé avec la souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922.

- **Lecture :**

À la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne s'est traduite par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés à l'aide d'une règle transparente, y compris le diamètre des disques. Selon la fourchette proposée par (Ponce *et al.*, 2003 ; Mouas *et al.*, 2017), les souches seront ainsi classées selon l'effet inhibiteur d'HE comme suit :

- Non sensible (-) : si le diamètre d'inhibition ne dépasse pas 8mm ($6 \text{ mm} \leq \text{Ø} \leq 8 \text{ mm}$).
- Sensible (+) : si $9 < \text{diamètre} \leq 14\text{mm}$.
- Très sensible (++) : si $15 < \text{diamètre} \leq 19\text{mm}$.
- Extrêmes sensible (+++) : si le diamètre dépasse 20mm ($\text{Ø} \geq 20 \text{ mm}$).

b) Méthode de la micro atmosphère :

- **Principe :**

Certains des composés volatils (terpènes, sesquiterpènes) ont une faible solubilité dans l'eau et ne peuvent pas être évalués par la méthode de diffusion sur gélose (Sabir *et al.*, 2017). Pour évaluer l'activité antimicrobienne de ces composés volatils contre les bactéries cibles, un essai de

diffusion en micro-atmosphère a été réalisé en utilisant la méthode de la boîte de Pétri inverse (Ghabraie *et al.*, 2016).

- **Technique :**

Des inoculums bactériens ont été préparés et ensemencés comme décrit ci-dessus (test de diffusion sur disque d'agar). Des disques de papier filtre stérile de 6 mm imprégnés de 10 μ l de chaque HE ont été soigneusement déposés au centre des couvercles des boîtes de Pétri (Figure 29). Les boîtes ont été inversées et fermées avec papier film pour empêcher le transfert de vapeur en dehors des boites ainsi que la perte de composants volatils des HE. Les boites de Pétri étaient incubées à 37°C pendant 24 h. (Kengne *et al.*, 2019 ; Sabir *et al.*, 2017)



Figure 29: Dépôt du disque (la méthode de la micro atmosphère).

c) Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est la concentration la plus petite d'HE qui empêche les bactéries de se multiplier. C'est le paramètre le plus utilisé pour mesurer *in vitro* l'activité d'un antibiotique (Fauchère et Avril, 2002).

- **Principe :**

Cette méthode consiste à ensemencer, par une suspension bactérienne standardisée (0,5 McFarland), une série des dilutions de l'HE. L'observation de cette série après un temps d'incubation de 18 à 24 h permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus petite concentration en HE pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu (inhibition de la croissance de 90% de la population microbienne). (Brahmi *et al.*, 2021)

• **Technique :**

Une microdilution des huiles essentielles à tester, a été réalisée dans des microplaques à 96 puits selon le protocole décrit par (**Oumaskour *et al.*, 2021**). Le milieu de culture utilisé est constitué de Muller Hinton avec 0,5% de tween 80.

20 µl d'huile essentielle sont ajoutés dans le premier puits qui contient 170 µl de bouillon Mueller-Hinton (tween 80 : 0,5%) les autres puits contiennent déjà 95 µl Mueller-Hinton (tween 80 : 0,5%). Après homogénéisation du premier puits, 95 µl du mélange du premier puits sont transférés dans le deuxième puits et ainsi de suite, les 95 µl du dernier puits sont retirés (une dilution géométrique de base 2). Ensuite, chaque puits a été inoculé avec 5 µl de la suspension bactérienne à tester ($3,5 \times 10^7$ UFC/ml). Des puits contenant de BMH (tween 80 : 0,5%) ont été inoculés par la souche à tester sont utilisés comme contrôles positifs, ceux contenant le HE et BMH (tween 80 : 0,5%) non inoculés sont utilisés comme contrôle négatif (Figure 30).

Après 18 heures d'incubation à température de 37° C, Les résultats sont lus à l'œil nu sur la table UV, la CMI de l'huile essentielle est défini comme la plus faible concentration de l'huile essentielle à laquelle le micro-organisme testé ne présente pas de croissance visible dans le bouillon. (**Kengne *et al.*, 2019 ; Oumaskour *et al.*, 2021**)

Remarque : Test réalisé avec deux répétitions.



Figure 30 : La méthode de CMI.

d) Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

La CMB est définie comme étant la plus faible concentration de l'huile essentielle qui détruit 99,9% de la concentration cellulaire finale.

10 μ l de la suspension bactérienne sont repiqués à partir des puits montrant une absence complète de la croissance bactérienne puis déposés en strie sur gélose MH. Les boîtes ensemencées sont incubées pendant 18 h d'incubation à 37°C. La CMB a été considérée comme la concentration la plus faible à laquelle aucune croissance bactérienne n'a été observée (la première boîte dépourvue de bactéries). (Da Silva Dannenberg *et al.*, 2019 ; Chebaibi *et al.*, 2016).

Le rapport CMB/CMI est calculé, il permet de déterminer le pouvoir antibiotique de l'huile essentielle. Lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, on dit que l'extrait est bactéricide et lorsqu'il est supérieur à 4, l'extrait est qualifié de bactériostatique (Bouharb *et al.*, 2014).

Remarque : Pour chacun des tests réalisés (CMI et CMB) le nombre de répétition est deux fois.

Résultats et discussion

1. Résultats d'activités antibactériennes :

Suite au procédé d'extraction appliqué, nous avons obtenu une quantité de l'huile essentielle présentées dans les figures (31 et 32) :

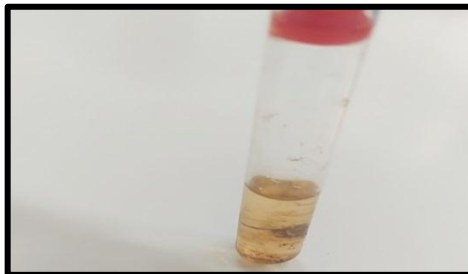


Figure 31 : Huile essentiel de *Laurus nobilis*



Figure 32 : Huile essentiel de *Pimpinella anisum*

1.1. Aromatogramme :

L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié. Les souches bactériennes testées présentent des diamètres d'inhibition différents vis à vis les huiles essentielles du *Laurus nobilis* et *Pimpinella anisum*. Les résultats sont consignés dans les figures suivantes (Figure 33 et 34).

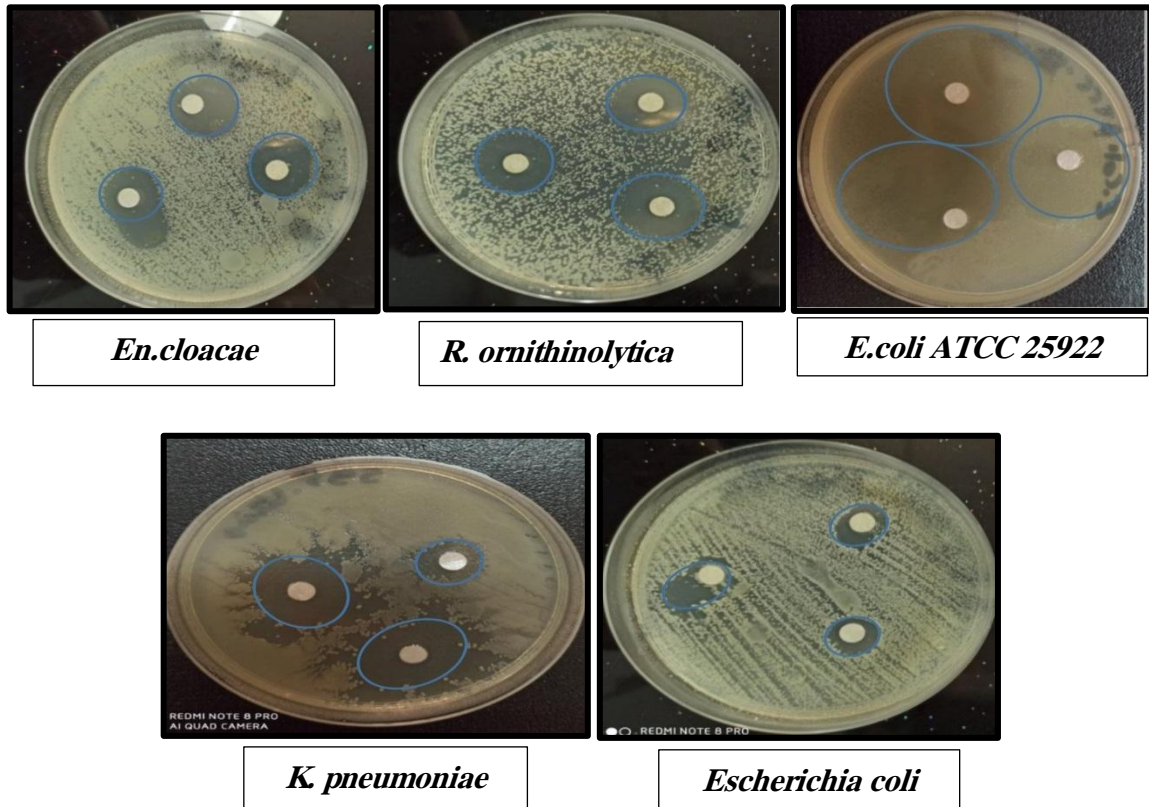


Figure 33 : Résultats des effets des huiles essentielles de *Laurus nobilis*.

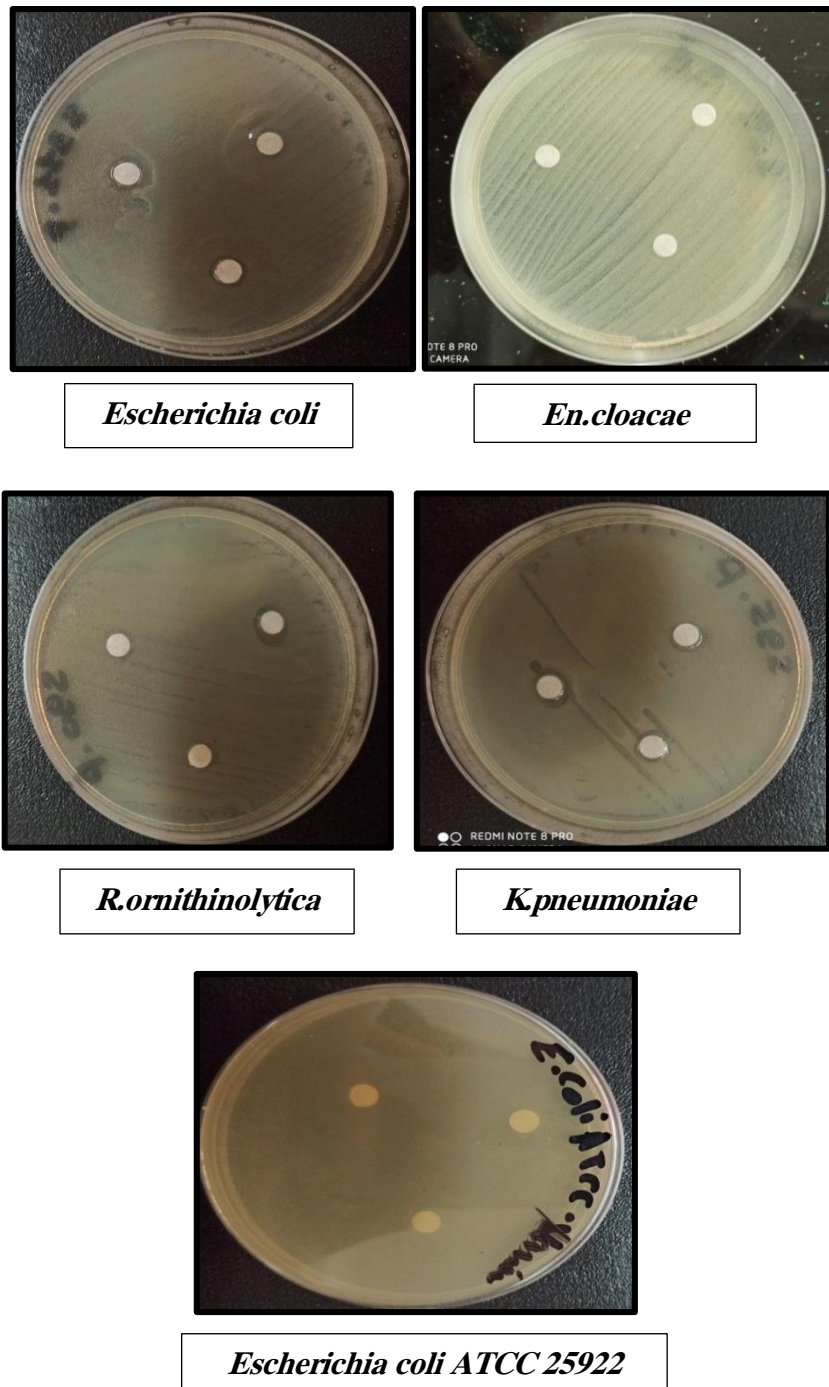


Figure 34 : Résultats des effets des huiles essentielles de *Pimpinella anisum*.

Le test de sensibilité bactérienne à nos huiles essentielles est regroupé dans les Tableau 07 et 08. Les valeurs indiquées sont les moyennes des trois mesures, les diamètres des disques (6mm) sont inclus aussi dans les mesures des zones d'inhibition.

Tableau 07 : Représentation des résultats des HEs de *LN* :

Plante : <i>Laurus nobilis</i>				
	diamètre en mm			
Espèces	D1	D2	D3	Moyenne
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	35	45	40	40
<i>Enterobacter cloacae</i>	20	22	15	19
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	22	22	25	23
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18	33	33	28
<i>Escherichia coli</i>	16	06	13	11

Tableau 08 : Représentation des résultats des HEs de *PA* :

Plante : <i>Pimpinella anisum</i>				
	diamètre en mm			
Espèces	D1	D2	D3	Moyenne
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	06	06	06	06
<i>Enterobacter cloacae</i>	06	06	06	06
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	12	06	06	08
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	08	10	11	09
<i>Escherichia coli</i>	06	06	06	06

D’après les résultats,

- L’huile de *Pimpinella anisum* montre une activité nettement réduite (09 mm) sur *Klebsiella pneumoniae*. Cependant, il s’est avéré qu’aucune activité n’a été observée vis-à-vis *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacae*, *Raoultella ornithinolytica* et *E. coli*. Notre résultat relatif à la sensibilité d’*Escherichia coli* ATCC 25922 vis-à-vis de l’huile essentielle de *Pimpinella anisum* est comparable à celui rapporté par (Gulcin *et al*, 2003). Selon (Ghouati *et al.*, 2012), l’HE de l’anis vert montre une activité antibactérienne contre *E.coli*. Elle explique ce résultat par la présence de l’anéthole et probablement ses isomères.
- Concernant l’activité de H.E *Laurus nobilis*, l’huile a réagi positivement sur l’ensemble des bactéries testées avec des diamètres d’inhibitions allant de 11 à 40 mm. Toutefois nous avons remarqué qu’*Escherichia coli* ATCC 25922 était la plus sensible avec un diamètre d’inhibition de 40 mm.

Cette différence d'activité a été expliquée selon (Oussalah *et al.*, 2005) par le fait que l'activité d'une huile essentielle à mettre en relation avec ses compositions chimiques, les groupes fonctionnelle de ses composées et les effets synergiques entre elles.

Toutefois, les souches microbiennes testées ont montré un certain degré de sensibilité à l'huile essentielle.

Selon (Annane et Boualili, 2014), ces résultats pourraient être dû à la composition chimique de la membrane externe des bactéries gram négative. En effet, ces dernières possèdent une membrane qui présente une perméabilité sélective; la surface des lipopolysaccharides contient des charges négatives qui empêchent la diffusion des molécules hydrophobes, et des porines qui bloquent le passage des molécules à haut poids moléculaire.

Selon (Chalal et Salmi, 2018), la sensibilité d'un microorganisme aux huiles essentielles dépend de la propriété de l'huile essentielle et du microorganisme lui-même. Il est bien connu que les bactéries Gram + sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries Gram - . Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HE confirment ces résultats. En fait, la grande résistance des bactéries à Gram - aux HEs est liée en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries à Gram +.

1.2. Méthode de la micro atmosphère :

Les résultats des effets des huiles essentielles de LN et PA sur les E- BLSE sont consignés dans la figure 35 et le tableau 09 suivants :

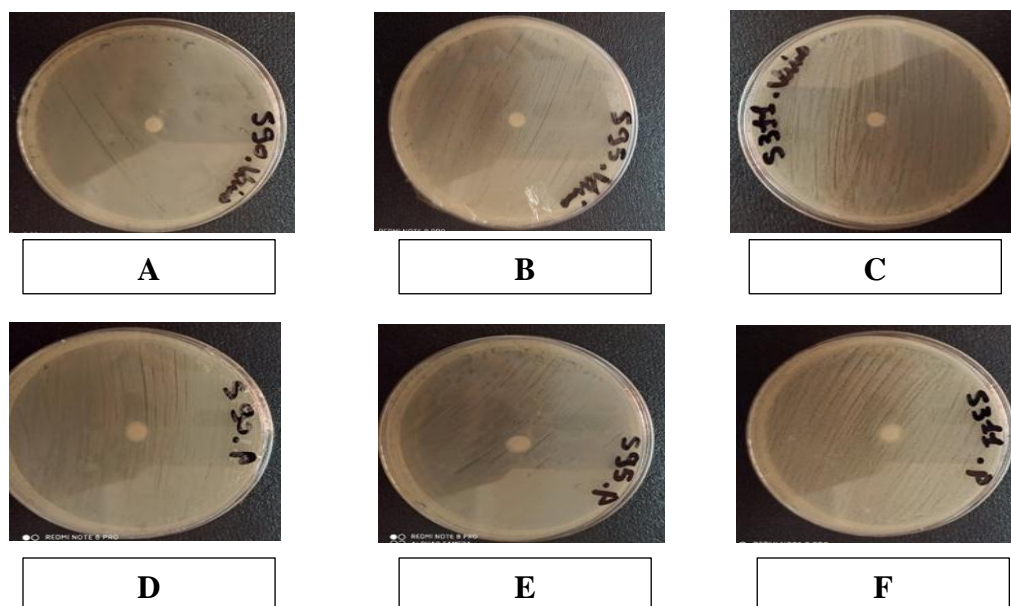


Figure 35: Résultats de la méthode de micro atmosphère

A: *R.ornithinolytica*. HE de LN

B: *K.pneumoniae*. HE de LN

C: *E.coli 1*. HE de LN

D: *R.ornithinolytica*. HE de PA

E: *K. pneumoniae*. HE de PA

F: *E.coli 1*. HE de PA

Tableau 09: Représentation des résultats des HEs de *LN* et *PA* :

Espèces	<i>Laurus nobilis</i>	<i>Pimpinella Anisum</i>
	Diamètre en mm	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	00 mm	00 mm
<i>Enterobacter cloacae</i>	00 mm	00 mm
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	00 mm	00 mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	00 mm	00 mm
<i>E.coli 1</i>	00 mm	00 mm

D’après le tableau, toutes les espèces testées ne présentent aucun diamètre d’inhibition pour les deux huiles essentielles.

1.3. Résultats de la CMI (concentrations minimales inhibitrices) :

Pour chacune des souches ayant montrées un certain degré de sensibilité vis-à-vis de l’huile essentielle étudiée, la détermination de la CMI a été effectuée par la méthode de microdilution en microplaques. La détermination de la CMI est basée sur l’observation de la présence ou absence d’une croissance bactérienne autour du puits. Les résultats de l’huile essentielle étudiée sur les souches testées sont rapportés sur les tableaux et les figures suivants :

Tableau 10 : Résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) d’HE de *Laurus nobilis* sur les E-BLSE.

Plante : <i>Laurus nobilis</i>										
Espèces	<i>E.coli</i> ATCC 25922		<i>En.cloacae</i>		<i>R.ornithinolytica</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>E. coli</i>	
10 µl/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
05 µl/ml	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
2.5 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
1.25 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.625 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.312 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.156 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.078 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.039 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.019 µg/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.0095 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0.0047 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Positive	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Négative	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : Positif ; - : négatif

Tableau 11: Représentation des moyennes de CMI pour chaque souche :

Plante : <i>Laurus nobilis</i>										
Espèces	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>En. cloacae</i>		<i>R. ornithinolytica</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>E. coli</i>	
CMI	05 µl/ml	05 µl/MI	10 µl/ml	10 µl/ml	10 µl/ml	05 µl/ml	10 µl/ml	05 µl/ml	05 µl/ml	2,5 µl/ml
Moyenne	05 µl/ml		10 µl/ml		7,5 µl/ml		7,5 µl/ml		3,75 µl/ml	

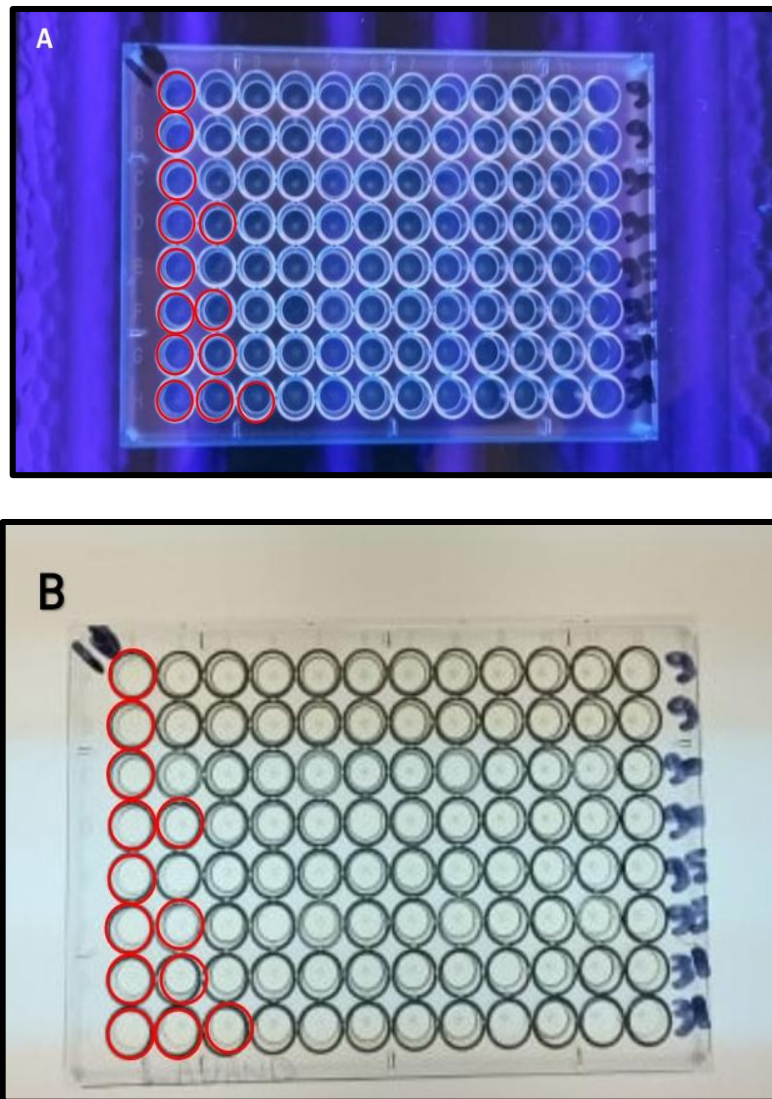


Figure 36 : Observations des microplaques de LN pour les souches *En.cloacae*, *R.ornithinolytica*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*
 A. Lecture par lampe UV B. lecture avec lumière blanche.

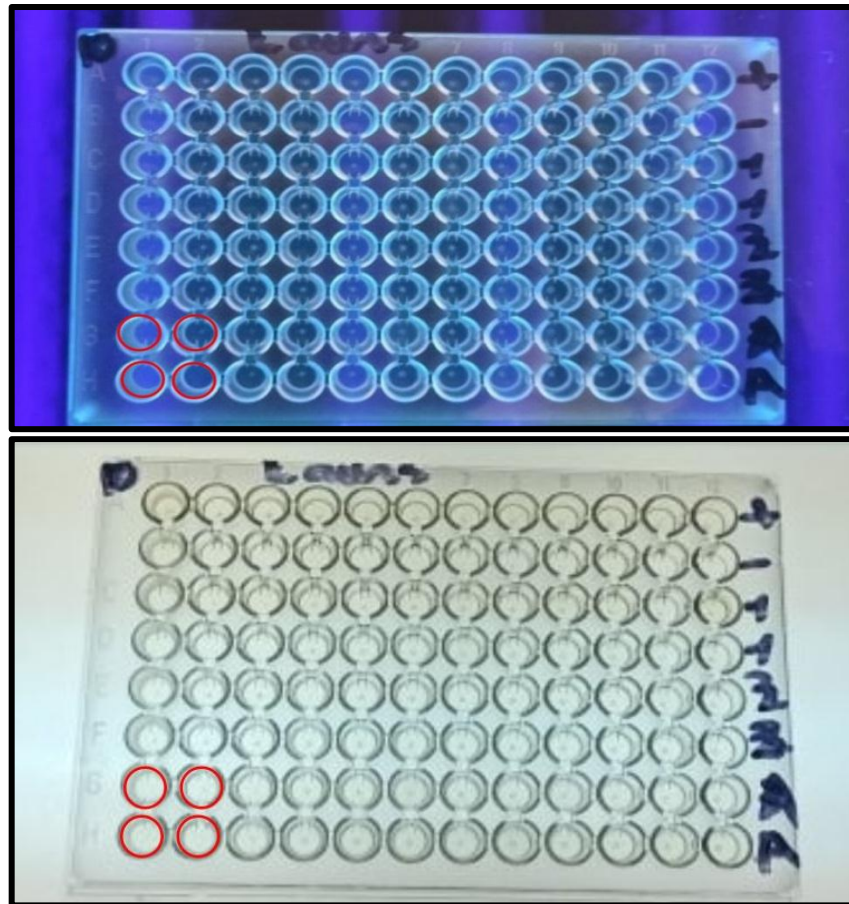


Figure 37: Observations de la microplaque pour la souche *E.coli* ATCC 25922.

A. Lecture par lampe UV B. lecture avec lumière blanche

Les résultats de la détermination des CMI montrent une variabilité dans la sensibilité des souches vis-à-vis l'huile de *Laurus nobilis*, plus la moyenne de la CMI est faible plus l'activité antibactérienne de l'huile est meilleure. La meilleure CMI (moyenne = 3,75 µl/ml) a été obtenue avec *E.coli*, cela signifie que cette huile a un pouvoir inhibiteur très puissant sur la souche.

1.4. Résultats de la CMB (concentrations minimales bactéricides) :

Les valeurs des CMB sont déterminées à partir des résultats de repiquage des souches prélevées à partir des boîtes qui ont présenté une zone d'inhibition lors de l'observation des résultats des CMI. La figure 38 et les tableaux 12 et 13 illustrent les résultats de détermination des CMB de l'huile de *LN* étudié.

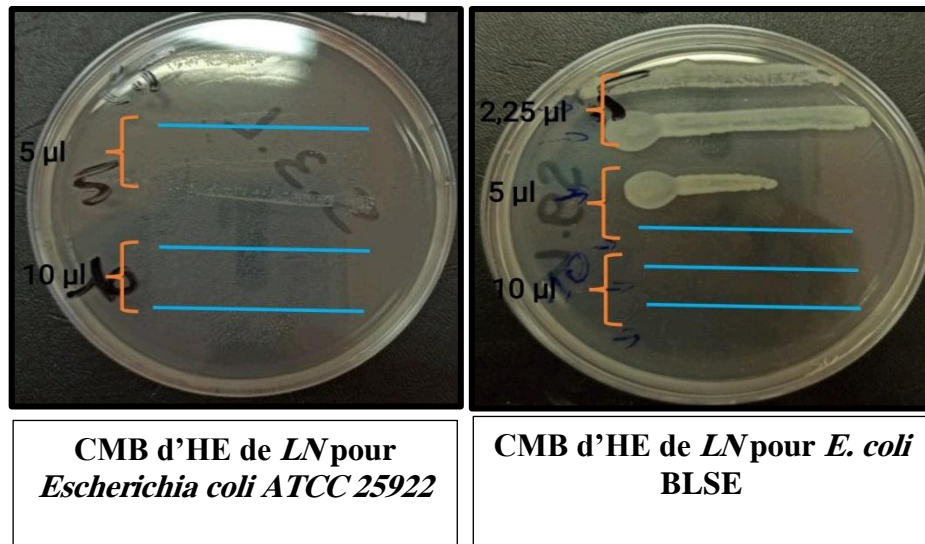


Figure 38 : Les résultats de la CMB.

Tableau 12 : Représente les concentrations minimales bactéricides (CMB) d’HE de *Laurus nobilis* sur les E-BLSE :

Plante : <i>Laurus nobilis</i>										
Espèces	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>En.cloacae</i>		<i>R.ornithinolytica</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>E.coli</i>	
10 µl/ml	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
05 µl/ml	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
2.5 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1.25 µl/ml	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : Positif ; - : Négatif

Tableau 13: Représente les moyennes de CMB d’HE de LN pour chaque souche :

Plante : <i>Laurus nobilis</i>										
Espèces	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		<i>En.cloacae</i>		<i>R.ornithinolytica</i>		<i>K.pneumoniae</i>		<i>E.coli</i>	
CMB	05 µl/ml	10 µl/ml	10 µl/ml	10 µl/ml	10 µl/ml	10 µl/ml	10 µl/ml	10 µl/ml	05 µl/ml	10 µl/ml
Moyenne	7,5 µl/ml		10 µl/ml		10 µl/ml		10 µl/ml		7,5 µl/ml	

Selon les moyennes, la meilleure CMB a été obtenue avec la souche *E.coli* ATCC 25922 et *E.coli*. Les résultats totaux des CMI et CMB sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau 14 : Comparaison entre les moyennes de la CMI et CMB.

Espèces	Moyenne de CMI	Moyenne de CMB	Rapport CMB/CMI
<i>Escherichia coli ATCC 25922</i>	05 µl/ml	7,5 µl/ml	1.5
<i>En.cloacae</i>	10 µl/ml	10 µl/ml	1
<i>R.ornithinolytica</i>	7,5 µl/ml	10 µl/ml	1.33
<i>K.pneumoniae</i>	7,5 µl/ml	10 µl/ml	1.33
<i>E.coli</i>	3,75 µl/ml	7,5 µl/ml	2.14

La CMI a été calculé uniquement pour l’huile essentielle de *Laurus nobilis*, puisque les résultats de l’aromatogramme ont montré qu’HE de *Pimpinella anisum* est caractérisé par une faible activité antibactérienne. Les différentes valeurs de CMI obtenues nous permettent de constater que l’activité antibactérienne est en fonction de la bactérie et des différentes concentrations de l’huile essentielle testée.

Les CMI obtenues dans notre étude sont comparées à quelques autres études (Tableau 15).

Tableau 15 : Comparaison des CMI et CMB de quelques études.

Etudes	Notre étude		(Nait Irahah <i>et al.</i> , 2021)		(Snoussi, 2016)		(Goudjil <i>et al.</i> , 2015)	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>E.coli</i>	3,75 µl/ml	7,5 µl/ml	3.00 mg/ml	6.00 mg/ml	-	-	0.5 mg/ml	-
<i>Escherichia coli ATCC 25922</i>	05 µl/ml	7,5 µl/ml	0.75 mg/ml	3.00 mg/ml	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	7,5 µl/ml	10 µl/ml	-	-	-	-	0.11 mg/ml	-
<i>En.cloacea</i>	10 µl/ml	10 µl/ml	-	-	0.05 mg/ml	>50 mg/ml	-	-

Remarque : mg= µl×1

L’espèce *E.coli* s’est révélé la plus sensible à l’huile testée par CMI la plus faible (3,75µl/ml).

Notre résultat est presque identique à celui trouvée par (Nait Irahah *et al.*, 2021).

Nos résultats s’opposent à ceux trouvés par (Goudjil *et al.*, 2015) ou la souche la plus sensible est *Klebsiella pneumoniae*.

Selon (Snoussi, 2016), la souche la plus sensible est *En. cloacea* avec une CMI 0,5 mg/ml.

Nos résultats montrent que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* est de nature bactéricide pour toutes les souches testées.

Alors que selon (**Ouled Taarabt, 2017**), l'huile essentielle du *Laurus nobilis* en fonction des concentrations utilisées est sans effet sur *E. coli*.

D'après les figures 36 et 37 et le tableau 10, la croissance des différentes souches des bactéries a été influencée par les concentrations de l'huile essentielle testées. Les puits ne présentent pas de dépôts et d'un aspect clair indiquent une inhibition totale de croissance bactérienne. En revanche les puits présentent une croissance microbienne indiquent que l'HE n'a pas un effet sur la croissance des bactéries.

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées dans une large gamme de concentration allant de 3.75 à 10 µl/ml, alors que les valeurs des concentrations minimales bactéricide est de 7.5 à 10 µl/ml.

D'après le tableau 11 nous constatons que l'huile *Laurus nobilis* est active envers les souches testées, avec des valeurs de CMI qui sont : 3,75 µl/ml pour *E. coli*, 5 µl/ml pour *Escherichia coli* ATCC 25922, 10 µl/ml pour *Enterobacter cloacae*, 7,5 µl/ml pour *Raoultella ornithinolytica* et *K.pneumoniae* 10 µl/ml pour *E. coli*.

Il a été démontré que l'huile essentielle de laurier est réputée pour son activité inhibitrice contre un large spectre de micro-organismes. Son activité antibactérienne peut être expliquée par le fait qu'elle perturbe la stabilité de la membrane cellulaire, ainsi que par l'augmentation de sa perméabilité. Elle pourrait également altérer les protéines membranaires, et par conséquent, perturber le transport membranaire des molécules (**Kheyar et al., 2014**). Il a été démontré précédemment que les terpènes seraient parmi les constituants responsables de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de laurier. Le taux d'inhibition de la croissance bactérienne pourrait être dû à plusieurs facteurs, tels que : la saisonnalité, la variabilité de la matière végétale et la composition de l'huile essentielle. La capacité d'inhibition de cette dernière sur la croissance microbienne serait probablement due à l'effet synergique du 1,8-cinéole avec les terpènes oxygénés de l'huile (**Fidan et al., 2019**).

Conclusion

Conclusion et perspectives

De nos jours, l'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques est un problème mondial sérieux, donc il serait temps que la médecine moderne prenne conscience qu'il existe un complément et une alternative à une antibiothérapie de masse de plus en plus défailante. Le recours aux plantes médicinales constitue alors une des plus intéressantes pistes à explorer c'est dans cette perspective que nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet inhibiteur sur les entérobactéries productrices de β -lactamases, des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Laurus nobilis* et les graines de *Pimpinella anisum*, plantes largement utilisées en médecine traditionnelle à travers le monde.

Dans le présent travail, l'extraction des huiles essentielles a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation.

L'étude de l'activité antibactérienne par la méthode des diffusions des disques ou aromatogramme a montré des résultats intéressants vis-à-vis à les souches testée :

- ✓ L'effet inhibiteur de laurier est beaucoup plus importante par rapport l'anis vert vis-à-vis toutes les souches.
- ✓ Une exception est constatée pour *Klebsiella pneumonia*, ce dernier est sensible au *Pimpinella anisum*.
- ✓ L'inhibition de la croissance a varié en fonction de l'espèce bactérienne et de l'huile testée.
- ✓ *Pimpinella anisum* n'a aucun effet sur les entérobactéries BLSE.

Les résultats de la CMI et CMB ont montrés que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* peut être qualifiée de bactéricide sur la plupart des souches testées.

Enfin l'ensemble de ces résultats analysés permettent de mettre en évidence les effets efficaces de l'huile essentielle sur la croissance des E-BLSE et ouvre des perspectives d'utilisation de cette plante pour différents usage et ne constitue qu'un début dans le domaine de la recherche des substances naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer les activités mises en évidence.

Il sera intéressant à l'avenir :

- ✓ Procéder à une séparation par des méthodes avancées afin d'identifier la composition de huile essentielle de *Laurus nobilis*.
- ✓ L'étude approfondie de la composition chimique de l'huile essentielle et du spectre d'action antimicrobien.
- ✓ Explorer d'autres activités biologiques de l'huile essentielle de *Pimpinella anisum*.

Références bibliographiques

A

1. Aafi A, Ghanmi M, Satrani B, Aberchane M, Ismaili My R, El Abid A. (2011). Diversité et valorisation des principales plantes aromatiques et médicinales (PAM) de l'écosystème cédraie au maroc. *Centre de Recherche Forestière*. 1-16.
2. Adenot M. (2000). Initiation à la chimie médicinale "les voies de la découverte des médicaments. *Ellipses*. 223p.
3. Akel Z. (2014). Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de capbapenemases isolées de Chu ibn sina-Rabat.Thèse de doctorat. Université Mohammed v – Rabat. 119 p.
4. Alejo-armijo A, Altarejos J, Salido S. (2017). Phytochemicals and biological activities of laurel tree (*Laurus nobilis*). *Natural Product Communications*. 12 (5).
5. Annane A, Boualili M. (2014). Evaluation *in vitro* de l'action antibactérienne d'huile essentielle de *Sauge Officinale L. (Salvia officinalis)* de la région Nord-ouest de Tizi-Ouzou. Mémoire de Master en Biologie. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 78 p.
6. Appel TM, Quijano-martínez N, La caden E, Mojica MF, Villegas MG. (2021). Microbiological and clinical aspects of *Raoultella spp.* *Frontiers in public health*. 1125.
7. Armand-lefèvre L. (2017). La résistance en ville, mythe ou réalité? la menace des entérobactéries productrice de BLSE. *Journal des Anti-infectieux*. 19 (1): 1-6.

B

8. Babulka P. (2004). L'anis vert (*Pimpinella anisum L.*). *Phytothérapie*. 2(2): 57-59.
9. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils-a review. *Food and chemical toxicology*. 46(2): 446-475.
10. Balière C. (2016). Les *Escherichia coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des stec et des epec. Thèse de doctorat. Université de Bretagne Occidentale. 178p.
11. Bekara A, Ait Hamadouche A , Kahloula K, Harouat S, Tabbas D, Aoues A. (2015). L'impact de l'extrait aqueux de l'anis vert (*Pimpinella anisum L.*) lyophilisé chez les rats intoxiqués au plomb: étude neurocomportemental. *PhytoChem & BioSub Journal*. 9(2): 49-57.

12. Bekara A, Ait Hamadouche A, Kahloula K, Sadi N, Aoues A. (2016). Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* *Algerian Journal of Natural Products.* 4 (3): 299-307.
13. Bekhti N, Alessandra P, Belabdelli F, Danilo F, *et al.* (2020). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Laurus nobilis* leaves. *Natural Product Research.* 36 (4) : 989-993.
14. Belbel Z. (2014). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.
15. Ben moussa A. (2016). Profil de sensibilité des entérobactéries aux fluoroquinolones au Chu de Rabat. Thèse de doctorat. Université Mohammed v- Rabat. 77 p.
16. 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. *Journal of Essential oil Research.* 28(3): 202-210.
17. Bennadja S, Tlili Ait Kaki Y, Djahoudi A, Hadeff Y, Chefrour A. (2013). Antibiotic Activity of the Essential Oil of Laurel (*Laurus nobilis L.*) On Eight Bacterial Strains. *Journal of Life Sciences.* 7(8): 814-819.
18. Bentabet J. (2021). Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargie à l'Hopital Ibn Tofail. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad, Faculté de médecine et de pharmacie -Marrakech.74 p.
19. Benzeggouta N. (2005). Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister. Université Mentouri de Constantine. 118 p.
20. Bertholom C. (2013). Détection des BMR chez les entérobactéries. *Option/Bio.* 485: 1618.
21. Billerbeck VG. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie.* 5 (5): 249-253.
22. Bouguenoun W. (2017). Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba. 176 p.
23. Bouharb H, El Badaou K, Zair T, El amri J, Chakir S, Alaoui T. (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité

- antibacterienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Bioscience*.78: 6685-6693.
24. Boukhatem MN, Ferhat A, Kameli A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Revue Agrobiologia*. 9(2): 1653-1659.
25. Boumahdi Y. (2014). Elaboration de lotions à base d'huiles essentielles d'une plante algérienne pour lutter contre les microorganismes et parasites externes chez l'homme et l'animal. Mémoire de magister. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene. Faculté de Génie Mécanique & Génie des Procédés. 80 p.
26. Brahmi M, Adli DEH, Boufadi MY, Arabi W, Kahloula K, Slimani M. (2021). Antimicrobial and antiochratoxic activities of mentha spicata essential oil. *Phytothérapie*.
27. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. (1995). A functional classification scheme for bêta lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 39:1211-1233.

C

28. Carip C. (2008). Microbiologie hygiène base microbiologiques de la diététique. *Edition Tec & Doc Lavoisier*, Paris. 429p.
29. Cattoir V, Bicêtre F. (2008). Les nouvelles Beta-lactmases a spectre etende (BLSE). *Pathologie infectieuse en réanimation*. 204-209.
30. Chalal C, Salmi O. (2018). Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Mentha x piperita L* en combinaison avec les antibiotiques: Activité antibiofilm de l'huile essentielle de *Laurus nobilis L*. *Biotechnologie microbienne*. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 114 p.
31. Charles DJ. (2013). Antioxidant properties of spices, herbs and other sources: chapter 8 "Anise". *Springer Science+Business Media New York*. 159-164.
32. Chebaibi A, Marouf Z, Rhazi-Filali F, Fahim M, Ed-Dra A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*. 14(6) : 355-362.
33. Comte D, Petitpierre S, Bart PA, Spertini F. (2012). Allergie aux b-lactamines. *Revue Médicale Suisse*. 8: 836-842.
34. Couic-Marinier F, Lobstein A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain a l'officine. *Actualités pharmaceutiques*. 52 (525), 18-21.

35. Courvalin P. (2008). La résistance des bactéries aux antibiotiques: combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. *Bulletin de L'Académie vétérinaire de France*. 161 (1): 7-12.

D

36. Da Silva Dannenberg G, Funck, GD, Da Silva WP, Fiorentini ÂM. (2019). Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. *Food control*. 95, 115-120.
37. Daffe F M. (2018). Surveillance de la résistance aux antimicrobiens des souches de *Kebsiella pneumoniae* isolées au laboratoire rodolphe merieux de 2016 à 2017. Thèse de doctorat. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako. 114 p.
38. Dalia F, Benkhemissa M. (2020). L'aromathérapie : exploration du potentiel anti-infectieux des huiles essentielles. *Bulletin de santé Hospitalo-Universitaire*. Page 07.
39. Davin-regli A, Pagès JM. (2015). *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in microbiology*.6: 392.
40. De wals PY. (2007). Analyses mutationnelles et cinétiques de la β -lactamase TEM-1 d'*Escherichia coli* vers une meilleure compréhension du phénomène de résistance aux antibiotiques. Mémoire de l'obtention du grade de M.Sc. Département de biochimie. Faculté de médecine. Université de Montréal. 132 p.
41. Doi Y, Wachino JI, Ishiguro M, Kurokawa H, Yamane K, Shibata N, Shibayama K, Yokoyama K, Kato H, Yagi T, Arakawa Y. (2004). Inhibitor-sensitive Ampc β -lactamase variant produced by an *Escherichia coli* clinical isolate resistant to oxyiminocephalosporins and cephamycins. *Antimicrobiol agents chemother*. 48 (7): 2652-2658.

E

42. Echchaoui M. (2018). Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université Mohammed-v Rabat. 139 p.
43. Eddair Y. (2021). La résistance aux bêta-lactamines par production de bêta-lactamase à spectre élargi chez les enterobactéries: caractérisation phénotypique et génotypique. Thèse de doctorat. Université Mohammed v de Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie Rabat. 97p.

44. El Malti J, Amarouch H. (2009). Antibacterial effect, histological impact and oxidative stress studies from *Laurus nobilis* extract. *Journal of Food Quality*. 31: 190-208.
45. El SN, Karagozlu N, Karakaya S, Sahin S. (2014). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils extracted from *Laurus nobilis* L. Leaves by using solvent-free microwave and hydrodistillation. *Food and Nutrition Sciences*. 5: 97-106.

F

46. Fazal MA, Alexander S, Grayson NE, Deheer-graham A, Oliver K, Holroyd N, *et al.* (2019). Complete whole-genome sequences of two *Raoultella terrigena* strains NCTC 13097 and NCTC 13098, isolated from human cases. *Microbiology resource announcements*. 8 (27).
47. Fidan H, Stefanova G, Kostova I, Stankov S, Damyanova S, Stoyanova A, D Zheljzakov V. (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of *Laurus nobilis* L essential oils from Bulgaria. *Molecules*. 24(4):804.
48. Fodil H. (2021). Ethnobotanique, composition chimique et activités biologiques des huiles essentielles de quelques espèces de la flore du hodna (M'sila). Thèse de doctorat. Université Mohamed Boudiaf - M'sila. 96 p.
49. Fontaine V. (2018). Gravité clinique et biologique initiale des bactériémies à entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE) aux urgences : comparaison avec les bactériémies à entérobactéries non BLSE par une étude cas-temoins. Thèse de doctorat. Université Grenoble Alpes UFR de médecine de Grenoble. 54p.
50. Fouquet M, Morange V, Bruyère F. (2012). Evolution sur cinq ans des infections à germes produisant une β -lactamase à spectre étendu. *Progrès en urologie*. 22: 17-21.

G

51. Gadou V. (2019). Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan, Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat. Université Félix Houphouët Boigny. 152 p.
52. Gangoue J. (2007). Caractérisation des bêta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse de doctorat : biochimie. Liège à : Université de Liège. 104 p.

53. Ghabraie M, Vu KD, Tata L, Salmieri S, Lacroix M. (2016). Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. *LWT-Food Science and Technology*. 66: 332-339.
54. Ghouati Y, Belaiche T, Ouhssine M, Amechrouq A, Tahiri A, Chakir S. (2012). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de fruits d'anis vert marocain. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 151(1-4): 25-34.
55. Goro AA. (2021). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020. Thèse de doctorat. Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (U.S.T.T.B). 90 p.
56. Grimont F, Grimont PAD. (2015). *Serratia*. *Bergey's Manual of Systematics of Archea and Bacteria*. 1-22.
57. Guinoiseau E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Université de Corse-Pasquale Paoli. Faculté des sciences et techniques. 143 p.
58. Gulcin I, Oktay M, Kirecci, Kugrevioglu I. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts. *Food chemistry*. 83(3): 371-382.

H

59. Hacker J (1992). Role of fimbrial adhesins in the pathogenesis of *Escherichia coli* infections. *Canadian Journal of Microbiologie*. 38 (7): 720-727.
60. Haddouchi F, Benmansour A. (2008). Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. application à deux plantes aromatiques. huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*. 3 (8): 20-27.
61. Hansen DS, Aucken H M, Abiola T, Abiola T, Podschun R. (2004). Recommended test panel for differentiation of *klebsiella* species on the basis of a trilateral interlaboratory evaluation of 18 biochemical tests. *Journal of Clinical Microbiology*. 42 (8): 3665-3669.

K

62. Kengne LG, Nyegue MA, Del E, Ndedi FM, Etoa FX. (2019). Antibacterial activity of selected plant essential oils on airborne bacteria and mode of action on membrane integrity. *Am. J. Essent*. 7 : 28-35.

63. Kheyar N, Meridja D, Belhamel K. (2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inulaviscosa Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products*. 2:1(2014)18-26.

L

64. 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).
65. Lagha N. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'Hôpital de Laghoua. Thèse de doctorat. Université Abou bekr Belkaïd. Tlemcen. Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers. 84 p.
66. Larpent JP. (2000). Introduction à la nouvelle classification bactérienne: les principaux groupes bactériens. *Edition Tec & Doc*. 280p.
67. Lavigne J-P, Sotto A, Merle C, Jourdan J, Soussy C J. (2002). Résistance enzymatique d'*Escherichia coli* aux β -lactamines et prévalence en clinique. *Pathologie Biologie*. 50 (6): 388-393.
68. Lee J, Carey J, Perlman DC. (2006). *Pneumonia* and bacteremia due to *Serratia odorifera*. *Journal of Infections*. 53 (3): 212-214.
69. 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 reunion. 143 p.

M

70. Marques A, Teixeira B, Nunes ML. (2016). Bay laurel (*Laurus nobilis*) oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. 239-246.
71. Martin C. (1999). Antibiothérapie au service d'urgence. *Amette*. 218 p.
72. Meziani M. (2012). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : cas des entérobactéries et *Pseudomonas*. Mémoire de magistère. Université Mentouri Constantine. 67p.
73. 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.

74. Moghtader M, Farahmand A. (2013). Evaluation of the antibacterial effects of essential oil from the leaves of *Laurus nobilis L.* in Kerman Province. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*. 5(2): 13-17.
75. Mouas Y, Benrebiha FZ, Chaouia C. (2017). Évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis L.* *Revue Agrobiologia*. 7 (1): 363-370.
76. Muylaert A, Mainil J.P. (2012). Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur " contagiosité". *Annales de Medecine Vétérinaire*. 156: 109-123.

N

77. Nait Irahah I, Lahlou FA, Hmimid F, Errami A, Guenaou I, Diawara I, *et al.* (2021). Identification of the chemical composition of six essential oils with mass spectroscopy and evaluation of their antibacterial and antioxidant potential. *Flavour Fragr Journal*. 36 (4): 465-476
78. NCCLS "National Committee for Clinical Laboratory Standards". (2001). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement, M100-S11, Wayne, PA, USA.
79. Nordmann P, Poirel L. (2002). Emerging carbapenemases in gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect*. 8 (6), 321-331.

O

80. Ouibrahim A, Tlili-Ait-kaki Y, Bennadja S, Amrouni S, Djahoudi AG, Djebbar MR. Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis L*, *Rosmarinus officinalis L* and *Ocimum basilicum L* from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*. 7(42): 4968-4973.
81. 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.
82. Ouled Taarabt K, Koussa T, Najib Alfeddy M. (2017). Caractéristiques physiologiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Laurus nobilis L* au Maroc. *Afrique Science*. 13(1) :349-359.
83. Oumaskour K, Benaziz M, Ainane T, *et al.* (2021). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential of *Pistacia lentiscus L*. *Pharmacology Online*. 2: 518-526.
84. Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. (2005). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7,

Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control. 18 (5): 414-420.

P

85. Paterson DL, Bonomo RA. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews.* 18 (4): 657-686.
86. 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.
87. Patrick G. (2002). Chimie pharmaceutique. De Boeck. 629p.
88. Philippon A. (2005). β -lactamases : généralités. Université Paris. Faculté de médecine descartes, service de bactériologie 75014 Paris. Sur le lien:<http://www.microbesedu.org/mecanisme/bla/generalites.html>
89. Ponce AG, Fritz R, Del Valle C, Roura SI. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology.* 36 (7): 679-684.

R

90. Randrianarivelo R. (2010). Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « *Cinnamosma fragrans* », alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo. Faculté de science. 179 p.
91. Robin F, Gibold L, Bonnet R. (2012). Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries: Comment les identifier en pratique quotidienne?. *Revue Francophone des Laboratoires.* 445: 47-58.
92. Rodriguez-villalobos H, Struelens MJ. (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation.* 15 (3): 205-213.
93. Sabir A, El Khalfi B, Errachidi F, Chemsy I, Serrano A, Soukri A. (2017). Evaluation of the potential of some essential oils in biological control against phytopathogenic agent *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 responsible for the tomatoes speck. *OMIC Publishing Group.* 8 (9).

S

94. Schicklberger M, Shapiro N, Loqué D, Woyke T, Chakraborty R. (2015). Draft genome sequence of *Raoultella terrigena* R1Gly, a Diazotrophic Endophyte. *Genome Announcements.* 3 (3).

95. Shah AA, Hasan F, Ahmed S, Abdul H. (2004). Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of gram-negative bacilli producing extended spectrum β -lactamases. *Research in microbiology*. 155 (6): 409-421.
96. Shukla HS, Dubey P, Chaturvedi RV.(1989). Antiviral properties of essential oils of *Foeniculum vulgare* and *Pimpinella anisum L.* *Agronomie*. 9(3). 277-279.
97. Siriken B, Yavuz C, Guler A. (2018). Antibacterial activity of *Laurus nobilis*: A review of literature. *Medical Science and Discovery*. 5(11) : 374-379.
98. Singleton P. (2008). Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6ème. édition. *Science Sup*. 542p.
99. Snuossi M, Trabelsi N, Ben Taleb S, Dehmeni A, Flamini G, De Feo V. (2016). *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *anethum graveolens* Essential Oils: Composition, antioxidant and Antibacterial Activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*. 21 (10): 1414

T

100. Taleb Toudert K. (2005). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de la kabylie évaluation de leurs effet sur la broche du niébé. Tizi Ouzou, *UMMTO*.
101. Thony E. (2018). L'utilisation de l'aromathérapie dans les troubles digestifs. Thèse de doctorat. Université de Lorraine. 112 p.
102. Tidrarine S. (2019). Epidémiologie des enterobactéries productrice de cabapenamase a l'Hit. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayad Marrakech. 132 p.
103. Tubereso CIG, Barra A, Angioni A, Sarritzu E, Pirisi FM.(2006). Chemical composition of volatiles in Sardinian Myrtle (*Myrtus communis L*) alcoholic extracts and essential oil. *Journal of agricultural and food chemistry*. 54 (4): 1420-1426.

V

104. Van houdt R, Givskov M, Michiels C. (2007) . Quorum sensing in *Serratia*. *Fems Microbiology Reviews*. 31 (4): 407-424.
105. Vodovar D, Marcadé G, Raskine L, Malissina I, Mégarbanea B. (2013). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi: épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *La revue de médecine interne*. 34 (11): 687-693.

W

- 106.** Wichtl M, Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale. Science et thérapeutique. 2ème édition. *Edition TEC et DOC*. 2003.
- 107.** Wu W, Feng Y, Zong Z. (2020). Precise species identification for *Enterobacter* : a genome sequence-based study with reporting of two novel species *enterobacter quasiroggenkampii* sp. nov. and *Enterobacter quasimori* sp. nov. *Journals American Society for Microbiology*. 5(4).

Y

- 108.** Yala D, Merad AS, Mohamedi D, Ouar korich MN. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. 91 (1): 5-12.
- 109.** Yu X, Zheng B, Zhang J, Xu H, Xiao T, Zhou Y, *et al.* (2019). Comprehensive genome analysis of carbapenem-resistant strains of *Raoultella* species, an emerging multidrug-resistant bacterium in Hospitals. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 63 (12).

Annexes

Annexe 01 :

Tableau A : Classification des β -lactamases d'après Bush-Jacoby-Medeiros (Bush *et al.*, 1995).

Classe moléculaire (Ambler)	Groupes fonctionnels (Bush & al.)	Type de β -lactamase et exemples représentatifs	Bactéries impliquées	Inhibition par acide clavulanique	Inhibition par EDTA	β -lactamines hydrolysées	β -lactamines stables
β -lactamases à sérine active Classe A	2a	Pénicillinases	Bactéries à Gram positif	++	-	Pénicillines sauf pénicillines M	Pénicillines M, C1G, carbapénèmes
	2b	β -lactamase à large spectre TEM-1 & 2, SHV-1 plasmidiques et chromosomiques	Bactéries à Gram négatif	++	-	Amino-, carboxy- et uréido-pénicillines, C1G, C2G	Céphamycines, C3G, moxalactam, carbapénèmes, aztreonam
	2be	β -lactamases à spectre élargi aux C3G et à l'aztreonam SHV-2 à 9, TEM-3 à 29, VEB-1, plasmidiques	Entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++	-	Idem 2b + C3G et aztreonam	Céphamycines, moxalactam, carbapénèmes
	2br	β -lactamases à large spectre résistant à l'ac clavulanique TRI : dérivé TEM-30 à -41, plasmidiques	Entérobactéries	-	-	Idem 2b + associations aux inhibiteurs de β -lactamases	Idem 2b
	2c	Carbénicillases PSE-1, PSE-3, PSE-4 plasmidiques	Bactéries à Gram négatif	+	-	Idem 2b	Idem 2b
	2e	Céphalosporinases chromosomiques inhibées par l'acide clavulanique - Cefuroximase Cum A (<i>P. vulgaris</i>), - L2 (<i>S. maltophilia</i>)	Bactéries à Gram négatif (surtout entérobactéries)	++	-	Amino-, carboxy- et uréido-pénicillines, C1G, C2G, certaines C3G	Ceftazidime, céphamycines, aztreonam, carbapénèmes
	2f	Carbapénémases à site actif sérine et inhibées par l'acide clavulanique Ex : IMI-1, NMC-A, chromosomiques	Entérobactéries	+	-	Idem 2b + aztreonam, carbapénèmes et certaines C3G	Certaines C3G
Classe C	1	Céphalosporinase AmpC chromosomiques (Entérobactéries*, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Acinetobacter</i> spp.) et plasmidiques (CMY, FOX, MOX, MIR-1...)	Bactéries à Gram négatif	-	-	Toutes les β -lactamines sauf les carbapénèmes	Carbapénèmes
Classe D	2d	Oxacillinases OXA-1 à -20 plasmidiques et chromosomiques	Bacilles à Gram négatif	V	-	Idem 2b (+ parfois C3G, aztreonam ou carbapénème)	Variable
Pas de classe attribuée	4	Enzymes indéterminées Ex : enzymes chromosomiques de <i>C. jejuni</i> , <i>C. cepacia</i> ...	Espèces variées	-	-	Variable	Variable
β -lactamases Zinc-dépendances Classe B	3	Métallo- β -lactamases IMB-1/3 chromosomiques ou plasmidiques, enzymes chromosomiques de <i>Aeromonas</i> spp., <i>Flavobacterium</i> spp., <i>S. maltophilia</i> L1	Bactéries à Gram négatif	-	++	Large profil de substrats dont les carbapénèmes	Variable
Inhibition : inhibiteur fort++, inhibiteur modéré+, négligeable -, V : variable * <i>E. coli</i> (bas niveau), <i>E. cloacae</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>M. morgani</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>H. alvei</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>P. rettgeri</i>							

Annexe 02 :

Milieux de culture utilisés

Les compositions sont données pour un litre de milieu.

1) Gélose Mac Conkey

Composition

- Pancreatic Digest of gelatin 17 g
- Peptone (caséine, viande) 3g
- Lactose 10g
- Mélange de sels biliaires 1.5g
- Chlorure de sodium 5.0
- Rouge neutre 0.03g
- Cristal violet 0.001g
- Agar bactériologique 13.5g

pH final 7.1 ± 0.2 à 25 °C

Préparation

Suspendre 50 g dans un litre d'eau distillé. Chauffer jusqu'à la dissolution totale par agitation.

Autoclaver a 121 °C pendant 15 min.

2) Gélose Mueller-Hinton (MH)

Composition

- Hydrolysate acide de caséine 17.5 g
- Infusion de viande 2 g
- Amidon soluble 1.5 g
- Agar Agar bactériologique 17 g

pH final 7.3 ± 0.2 à 25 °C. pH = 7,4

Préparation

Mettre en suspension 38 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. Porter à l'ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète. Autoclaver a 115 °C pendant 15min.

3) Bouillon nutritif :

Composition

- peptone 5g
- Extrait de viande 3 g

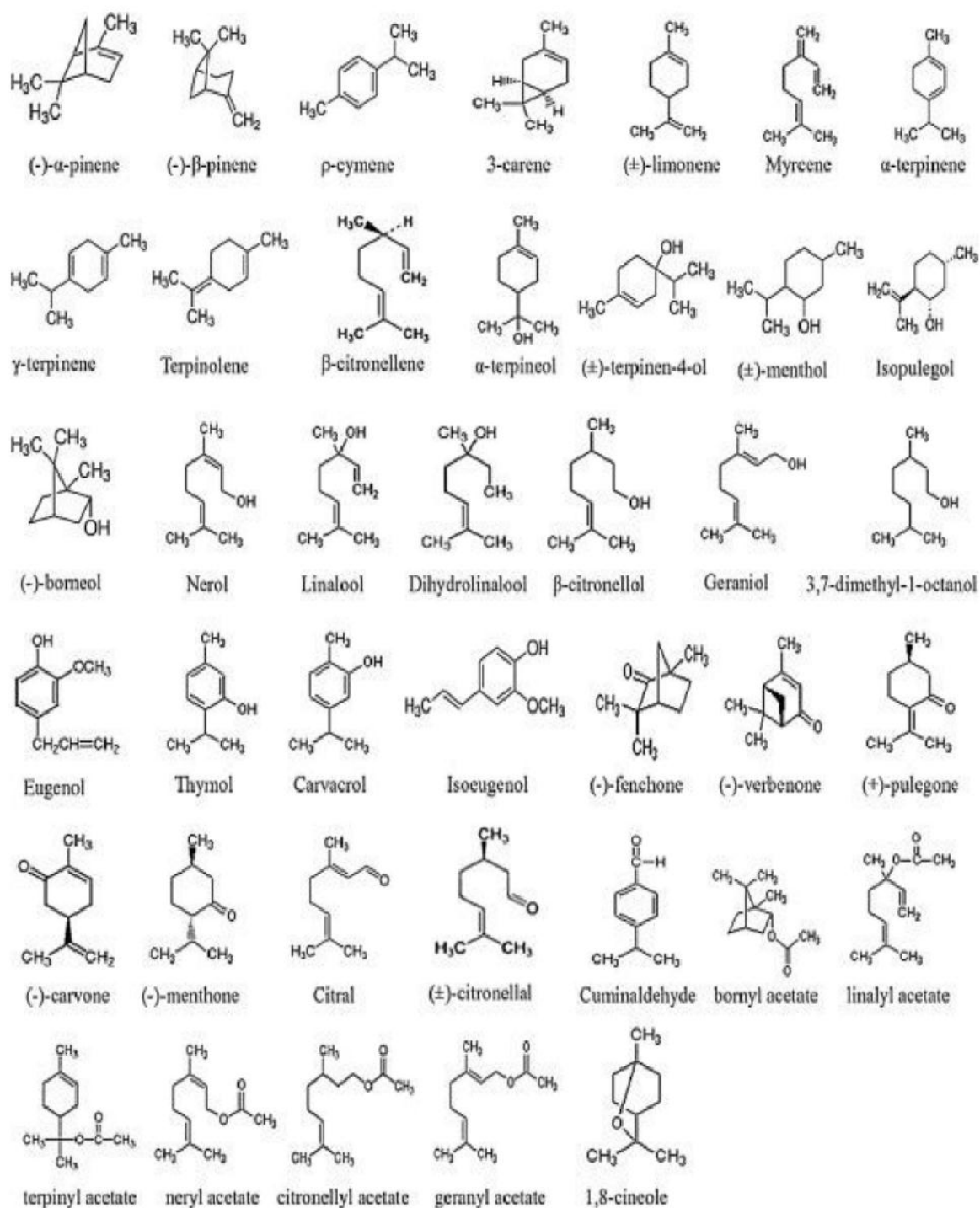
PH = 6,8

Préparation

Suspendre 8 g de milieu dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger et dissoudre en chauffant avec agitation. Faire bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète. Mettre dans des flacons ou des tubes et stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes

Annexe 03 :

Tableau B: Structure chimique de quelques constituants des huiles essentielles (Taleb Toudert K, 2005).



Annexe 04 :

Tableau C : Liste de plantes aromatiques par familles (Wichtl et Anton, 2003).

Famille botanique	Nom français	Nom latin
Anacardiaceés	Sumac	<i>Rhus coraria</i>
	Poivre rose du Brésil	<i>Schinus terebinthifolius</i>
Annonacés	Poivre rose du Pérou	<i>Schinus molle</i>
	Poivre de Guinée	<i>Xylopiya aethiopica</i>
Apiacés	Ajowan	<i>Trachyspermum ammi</i>
	Aneth	<i>Anethum graveolens</i>
	Angélique	<i>Angelica archangelica</i>
	Anis	<i>Pimpinella anisum</i>
	Ase fétide	<i>Ferula assa-foetida</i>
	Carvi	<i>Carum carvi</i>
	Céleri	<i>Apium graveolens</i>
	Cerfeuil	<i>Anthriscus cerefolium</i>
	Cerfeuil musqué	<i>Myrrhis odorata</i>
	Coriandre	<i>Coriandrum sativum</i>
	Cumin	<i>Cuminum cyminum</i>
	Fenouil	<i>Foeniculum vulgare</i>
	Livèche	<i>Levisticum officinale</i>
Persil	<i>Petroselinum crispum</i>	
Astéracés	Armoise	<i>Artemisia vulgaris</i>
	Aurone	<i>Artemisia obrotanum</i>
	Estragon	<i>Artemisia dracunculus</i>
	Tanaisie	<i>Tanacetum vulgare</i>
Bixacés	Rocou	<i>Bixa orellana</i>
Boraginacés	Bourrache	<i>Borago officinalis</i>
Brassicacés	Cresson alénois	<i>Lepidium sativum</i>
	Cresson de fontaine	<i>Nasturtium officinale</i>
	Moutarde blanche	<i>Sinapis alba</i>
	Moutarde brune	<i>Brassica juncea</i>
Caesalpiniacés	Raifort	<i>Armoracia rusticana</i>
Caesalpiniacés	Tamarin	<i>Tamarindus indica</i>
Cannabinacés	Houblon	<i>Humulus lupulus</i>
Capparidacés	Câpre	<i>Capparis spinosa</i>
Cupressacés	Genièvre	<i>Juniperus communis</i>
Fabacés	Fenugrec	<i>Trigonella foenum-graecum</i>
	Soja	<i>Glycine max</i>
Illiciacés	Badiane	<i>Illicium verum</i>
Iridacés	Safran	<i>Crocus sativum</i>
Lamiacés	Basilic	<i>Ocimum basilicum</i>
	Hysope	<i>Hyssopus officinalis</i>
	Marjolaine	<i>Origanum majorana</i>
	Mélicse	<i>Melissa officinalis</i>
	Menthes	<i>Mentha citrata</i>
	Menthe bergamte	<i>Mentha spicata</i>
	Menthe a feuilles rondes	<i>Mentha suaveolens</i>
	Menthe poivrée	<i>Mentha X piperita</i>
	Menthe pouliot	<i>Mentha pulegium</i>
	Monarde	<i>Monarda didyma</i>
Origan	<i>Origanum vulgare</i>	

	Romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>
	Sarriette	<i>Satureja hortensis</i>
	Sauge	<i>Salvia officinalis</i>
	Thym	<i>Thymus vulgaris</i>
Lauracées	Cannelle de Ceylan	<i>Cinnamomum verum</i>
	Cannelle de Chine	<i>Cinnamomum aromaticum</i>
	Laurier	<i>Laurus nobilis</i>
	Sassafras	<i>Sassafras albidum</i>
Liliacées	Ail	<i>Allium sativum</i>
	Ail des ours	<i>Allium ursinum</i>
	Ciboule	<i>Allium fistulosum</i>
	Ciboulette	<i>Allium schoenoprasum</i>
	Echalote	<i>Allium cepa var. ascalonicum</i>
	Oignon	<i>Allium cepa var. cepa</i>
	Poireau	<i>Allium porrum var. porrum</i>
Myristicacées	Muscade	<i>Myristica fragrans</i>
Myrtacées	Girofle	<i>Syzygium aromaticum</i>
	Piment de la Jamaïque	<i>Piment dioica</i>
Oléacées	Olive	<i>Olea europea</i>
Orchidacées	Vanille	<i>Vanilla planifolia</i>
Pédaliacées	Sésame	<i>Sesamum orientale</i>
Pipéracées	Poivres	<i>Piper nigrum</i>
Poacées	Citronnelle	<i>Cymbopogon citrates</i>
Ranunculacées	Nigelle	<i>Nigella sativa</i>
Rosacées	Pimprenelle	<i>Sanguisorba minor</i>
Rubiacées	Aspérule	<i>Galium odoratum</i>
Rutacées	Agrumes	<i>Citrus sp.</i>
	Bigaradier	<i>Citrus aurantium</i>
	Cédrat	<i>Citrus medica</i>
	Citron	<i>Citrus limon</i>
	Poivre du sichuan	<i>Zanthoxylum piperitum</i>
	Rue	<i>Ruta graveolens</i>
Solanacées	Piment doux	<i>Capsicum annuum</i>
	Piment fort	<i>Capsicum frutescens</i>
Tropaéolacées	Capucine	<i>Tropaeolum majus</i>
Verbénacées	Verveine odorante	<i>Aloysia triphylla</i>
Zinzibéracées	Cardamome	<i>Elettaria cardamomum</i>
	Curcuma	<i>Curcuma domestica</i>
	Galanga	<i>Alpinia officinarum</i>
	Gingembre	<i>Zingiber officinale</i>
	Poivre maniguette	<i>Aframomum melegueta</i>