

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière : Sciences Biologiques**

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par : Dridr Nour el Houda & Kada Fatima

Thème

Etude des activités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles de Salvia officinalis, Juniperus phoenicea et Mentha pulegium.

Soutenu le : 07/07/2019

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>LABDIRI FARID</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ.de bouira</i>	<i>Examineur</i>
<i>AIT MIMOUN NOUARA</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ.de bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>LAMINE SALIME</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ.de bouira</i>	<i>Président</i>

Année Universitaire : 2018/2019

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu "الله" le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail

Nos remerciements vont à notre promoteur madame Ait Mimoun. N pour son accueil, ses conseils toujours pertinents, et sa mise à notre disposition

Nos remerciements les plus sincères s'adressent également à Mr « Labdiri Farid » D'avoir accepté de présider le jury, ainsi que Mr « Lamine Salime » de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail

Nous remercions aussi le personnel du laboratoire de Microbiologie

Enfin, on est profondément reconnaissante à toute personne qui nous a aidés de près ou de loin, durant ce passage



Nour el houda et fatima



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts

A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents

Leurs sacrifices et leurs encouragements pendant toute ma vie, je Ne saurais jamais comment

exprimer mes sentiments pour avoir

Veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier

Assez de m'avoir donné le meilleur.

A mes chères soeurs douaa et asma

A mes frères mouhamed, zaki et roudouane

A mes chères grandes mères que Dieu l'es garde

A ma binôme fatima et sa famille

A mes chères copines bouchra ,ahlem, amina, tota,zineb,manel,fatima

A tous mes amis et tous qui me connaisse je vous aime

A toute la promotion Master II microbiologie appliquée 2019

Nour el houda



Dédicaces

*A laide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pue réaliser ce modeste travail
que je dédie :*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui ma apportée
son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'a donnée
confiance, courage, et sécurité.*

*A mon père qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice
ses conseils et ses encouragements.*

A mes frères djamel kamel et smail

A mes très chères sœurs :fatiha et hakima

A toutes ma belle famille

A mes chères amies :bouchra ahlam houda touta amina kahina samia meriam tinnhinan said

A mon binôme houda, ainsi qu'à toute sa famille

A toute la promotion Master II microbiologie appliquée 2019

Fatima

Résumé

Notre étude a pour objectif de déterminer l'activité antibactérienne et antifongiques des huiles essentielle de *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* sur des souches bactériennes et fongiques pathogènes .Dans cette étude, nous avons procédé sur étude analytique des caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles ainsi que l'évaluation de leur pouvoir antibactérien et antifongique. Les densités des huiles essentielles de *Salvia officinalis* , *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* sont différents et sont de l'ordre de 0.9, 0.87, 0.91 respectivement. Les résultats des activités antibactériennes ont montré que les huiles essentielles de *Mentha* et *Juniperus* présentent une bonne activité inhibitrice par rapport à l'huile de *Salvia*. L'activité antifongique nous a révélé que l'huile essentielle de *Mentha* présente une activité importante envers les champignons étudiés comparée avec *Salvia* et *Juniperus* qui sont faiblement actifs. D'après les résultats obtenus, on note que la *Menthe* présenté une meilleure activité antimicrobienne.

Mots-clés : huiles essentielles, activité antibactérienne, activité antifongique, *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*

Summary

Our study aims to determine the antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* and *Juniperus phoenicea* on bacterial and fungal pathogenic strains. In this study, we proceeded on analytical study and physicochemical characteristics of essential oils as well as the evaluation of their antibacterial and antifungal activity. The densities of the essential oils of *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* and *Juniperus phoenicea* are different and are of the order of 0.9, 0.87, 0.91 respectively. The results of the antibacterial activities have shown that the essential oils of *Mentha* and *Juniperus* have a good inhibitory activity compared to *Salvia* oil. The antifungal activity revealed that *Mentha* essential oil shows a significant activity towards the studied fungi compared with *Salvia* and *Juniperus* which are weakly active. From the results obtained, it is noted that mint exhibited a better antimicrobial activity.

Keywords: essential oils, antibacterial activity, antifungal activity, *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*.

ملخص

تهدف دراستنا إلى تحديد نشاط مضاد للجراثيم والفطريات للزيوت العطرية من *Salvia officinalis*، *Mentha pulegium* و *Juniperus phoenicea* للسلاطات المسببة للأمراض البكتيرية والفطرية ، في هذه الدراسة ، تابعنا دراسة تحليلية وخصائص فيزيائية وكيميائية للزيوت الأساسية وكذلك تقييم قوتها المضادة للبكتيريا والفطريات ، وكثافة الزيوت الأساسية: إن *Salvia officinalis* و *Mentha pulegium* و *Juniperus phoenicea* مختلفتان وترتيباً من 0.9 ، 0.87 ، 0.91 على التوالي. أظهرت نتائج الأنشطة المضادة للبكتيريا ذلك الزيوت الأساسية من *Juniperus* و *Mentha* لها نشاط مثبت جيد من قبل مقارنة مع زيت سالفيا. كشف النشاط المضاد للفطريات لنا أن الزيت العطري لدى *Mentha* نشاط مهم تجاه الفطريات التي تمت دراستها مقارنةً سالفيا و *Juniperus* التي تنشط ضعيفة. وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها، نلاحظ ذلك عرضت النعناع أفضل نشاط مضادات الميكروبات.

الكلمات المفتاحية: زيوت أساسية ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للفطريات ، *Salvia officinalis*، *Mentha pulegium*، *Juniperus phoenicea*

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des Abréviations	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Sommaire	
Introduction.....	01
Rappels bibliographiques	
Chapitre I : Les huiles essentielles.....	03
I.1. Définition et Localisation	03
I.2. Rôle chez les plantes	04
I.3. Propriétés physicochimiques	04
I.4. Composition chimique	04
I.4.1. Composés terpéniques	04
I.4.1.1. Les monoterpènes.....	05
I.4.1.2. Les sesquiterpènes	06
I.4.2. Les composés aromatiques	06
I. 4. 3. Autres composés	07
I.5. Paramètres influençant la composition chimique.....	07
I.5.1. Facteurs intrinsèques	07
I.5.2 Facteurs extrinsèques	07
I.6. Propriétés biologiques.....	08
I.6.1. Effets antibactériens.....	08
I.6.2. Activité antifongique.....	09
I.6.3. Propriétés antioxydantes	09
I.7. Mode d'action des huiles essentielles.....	09

I.8. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	09
Chapitre II : Les plantes aromatique et médicinales.....	11
II.1. Définition	11
II.2. <i>Salvia officinalis</i>	11
II.2.1. Description botanique	11
II.2.2. Classification taxonomique	12
II.2.3. Répartition géographique.....	12
II.2.4. Propriétés thérapeutiques	13
II.3. <i>Mentha pulegium</i>	14
II.3.1. Description botanique	14
II.3.2. Classification taxonomique.....	15
II.3.3. Propriétés thérapeutiques.....	16
II.4. <i>Juniperus phoenicea</i>	16
II.4.1. Description botanique.....	16
II.4.2. Classification taxonomique.....	17
II.4.3. Répartition géographique	18
II.4.4. Propriétés thérapeutiques	18
Chapitre III : Les microorganismes potentiellement pathogènes.....	20
III.1. Les moisissures.....	20
III.1.1. Le genre <i>Aspergillus</i>	20
III.1.2. Le genre <i>Penicillium</i>	20
III.2. Les bactéries.....	21
III.2.1. Genre <i>Pseudomonas</i>	21
III.2.2. Genre <i>Escherichia</i>	22
III.2.3. Les <i>Proteus</i>	22
III.2.4. Genre <i>Staphylococcus</i>	22

Matériel et méthodes

II.1. Matériel	24
II.1.1. Huiles essentielles.....	24
II.1.2. matériel biologique	25
II.1.2.1.souches bactériennes.....	25
II.1.2.2.Souches fongiques.....	25
II.1.3. Matériel non biologique	27
II.1.3.1.Verrerie et appareillage	27
II.1.3.2.Les réactifs.....	27
II.1.3.3.Les milieux de culture.....	27
II.2.Méthodes	28
II.2.1. Observation morphologique des souches.....	28
II.2.2.Mesure de densité relative à 20°C des huiles essentielles.....	28
II.2.3. Détermination de l'activité antimicrobienne.....	29
II.2.3.1. Activité antibactérienne	29
II.2.3.2. Activité antifongique	32
II.2.3.2.1.Détermination des taux d'inhibition de la croissance.....	32
II.2.3.2.2.Détermination de la concentration minimale inhibitrice	32

Résultats et discussion

III.1. Résultats	34
III.1.1.Étude analytique de l'huile essentielle	34
III.1.2.Densité des huiles essentielles	34
III.1.3. Observations morphologiques	35
III.1.3.1. souches bactériennes	35
III.1.3.2. souches fongique.....	36
III.1.4. Activité antimicrobienne.....	39
III.1.4.1. Activité antibactérienne.....	39
III.1.4.2. Test d'antibiogramme.....	44

III.1.4.2. Activité antifongique.....	46
III .1.4.2.1. Taux d'inhibition.....	46
III .1.4.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	48
III.2. Discussion	50
III.2.1. Densité des huiles essentielles.....	50
III.2.2. Pouvoir antibactérien.....	50
III.2.2.1. Test d'antibiogramme.....	52
III.2.3. Etude de l'activité antifongique.....	53
III.2.3.1. Inhibition de la croissance radiale des moisissures.....	53
III.2.3.2. La détermination des CMI.....	54
Conclusion	55

Références bibliographiques

Annexes

Resumé

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Structure chimique de l'isoprène	05
02	Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des HEs.	05
03	Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des HEs	06
04	Structure chimique de principaux composés aromatiques (phénols) extraits des HE	06
05	Montage d'extraction par Hydrodistillation	10
06	Photographies de <i>Salvia officinalis</i>	11
07	Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde	13
08	<i>Mentha pulegium</i> (<i>Menthe pouliotou</i> Flio)	14
09	Feuille et fleur de <i>Juniperus phoenicea</i>	17
10	les étapes expérimentales de l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.	31
11	Effet de l'huile essentielle de la sauge (<i>Salvia officinalis</i> L.) sur la croissance des bactéries	40
12	Effet de l'huile essentielle de la Menthe (<i>menthapulguim</i>) sur la croissance des bactéries	41
13	Effet de l'huile essentielle de <i>Juniperus</i> sur la croissance des bactéries	42
14	Effet des antibiotiques sur la croissance des bactéries	44
15	Histogramme de comparaison des zones d'inhibition	45
16	Inhibition de la croissance radiale par les huiles essentielles chez <i>Aspergillus flavus</i> et <i>Aspergillus fumigatus</i>	47
17	Détermination de la CMI en milieu liquide	48

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles	03
02	systematique de <i>Salvia officinalis</i>	12
03	Taxonomie de <i>Mentha pulegium</i>	15
04	Classification botanique de <i>Juniperus phoenicea</i>	18
05	Les huiles essentielles	24
06	Description et pouvoir pathogène des souches bactériennes	25
07	Description et pouvoir pathogène des souches fongiques	26
08	Verrerie et appareillage utilisés au laboratoires.	27
09	Aspect, odeur et couleur des huiles essentielles	34
10	La densité des huiles essentielles	35
11	L'observation macroscopique et microscopique des bactéries	35
12	L'observation macroscopique et microscopique réalisés sur les souches fongique	37
13	L'effet antimicrobien des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> <i>Juniperus phoenicea</i> et <i>Salvia officinalis</i> sur les bacteries	43
14	Les résultats d'antibiogramme	45
15	Pourcentages d'inhibition de la croissance radiale (2µl/ml)	46
16	CMI des huiles essentielles de trois plantes aromatiques sur les souches fongique.	48

Liste des abréviations

AFNOR : Association française de normalisation

ATB : Antibiotique

ATCC : American Type Culture Collection

AMP : Ampicilline

AMX : Amoxicilline

ATP : Adénosine triphosphate

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé au spectroscopie de masse

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CPG-SM : Chromatographie en Phase Gazeuse et la Spectrométrie de Masse

C° : Degré Celsius

DC : Diamètres de colonie dans les boites témoin positif

DE : Diamètres de colonie dans les boites contenant l'huile essentiel

D20 : Densité relative a 20C°

DO : Densité optique

HE ou HEs : Huiles Essentielles

I : Intermédiaire

I% : Taux d'inhibition

GEN : Gentamicine

McF : McFarland

MH : Mueller -Hinton

MO : Microorganisme

ND : Non déterminé

OMS : organisation mondiale de la santé

PDA : Gélose dextrose a la pomme de terre

PDB : Bouillon dextrose a la pomme de terre

R : Résistante

S : Sensible

UFC : Unité formant colonie



Introduction

Introduction

Les infections microbiennes sont des affections graves. Dont la fréquence a augmenté de façon considérable au cours des dernières années principalement chez les patients immunodéprimés et lors des interventions médicochirurgicales hospitalières. De plus, l'usage extensif des agents antibactériens dans la médication humaine a conduit à l'apparition de souches microbiennes résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles molécules (**Mebareki, 2010**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en développement) font recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes (**OMS, 2003**).

Il a été prouvé qu'environ 20% des espèces végétales dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques ou cosmétiques, car elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques, qui trouvent leur application dans divers domaines (médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture, etc.) (**Suffredini et al., 2004**).

Avec l'apparition des effets secondaires des médicaments synthétiques et l'augmentation de la résistance des microorganismes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques classiques, une bonne partie des recherches scientifiques s'oriente actuellement vers la voie de l'usage des extraits biologiques actifs des plantes aromatiques et médicinales, notamment vers les huiles essentielles (**Essawi et Srour, 2000**).

L'Algérie compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phylogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages bioclimatiques. On dénombre plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique existant parmi les 3 150 espèces végétales que compte notre pays (**MORAL, 2002**), (**NAIT, 2012**).

Actuellement, les plantes aromatiques et médicinales possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles et leurs extraits dans la médecine et dans d'autres domaines d'intérêt économique. En effet les huiles essentielles représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires. Ces substances naturelles riches en composés antimicrobiens et antioxydants peuvent être utilisées pour résoudre le problème d'altération post-récolte lié aux moisissures et éviter la perte en qualité et en quantité des denrées alimentaires pendant l'entreposage (**Serrano, 2008**).

Introduction

L'objectif de notre travail est basé sur l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des trois huiles essentielles issue de plante cultivées, dans notre pays. Il s'agit des huiles *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenice*.

La première partie de cette étude est consacrée à une recherche bibliographique concernant les huiles essentielles, une description botanique des espèces étudiées, et un rappel sur les microorganismes potentiellement pathogènes

Dans la deuxième partie, nous présenterons le matériel utilisé, les méthodes et les techniques appliquées au laboratoire dans chaque expérimentation de l'étude.

Pour finir une troisième partie qui traite les résultats obtenus et leurs interprétations.



Chapitre I : Les huiles essentielles

Chapitre I : Les huiles essentielles

I.1. Définition et localisation

Une huile essentielle est une substance odorante, composition complexe, renfermant les principes volatils, obtenue à partir d'une matière première botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage (**Bourrain, 2013**)

Dans les plantes, les huiles essentielles peuvent être stockées dans différents organes végétaux, variant en fonction de la zone productrice du végétal (**Lamendin, 2015**): sommités fleuries, feuilles, racines ou rhizomes, écorces, bois, fruits, graines (**Tableau I**) (**Lakhdar, 2015**)

Tableau 01: Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles (**Garneau, 2005**)

Organe	Exemples
Feuilles	Romarin, sauge, menthe
Feuille	Sapin, cèdre
Tiges	Citronnelle, lemongrass
Ecorces	Cannelier
Racines	Angelica, vétiver
Rhizomes	Acorus, gingembre
Bulbes	Oignon, ail
Bois	Santal
Fruits	Bleuet, citron
Fleurs	Jasmin, rose, jasmin
Graines	Aneth, carvi

I.2. Rôle chez les plantes

Le rôle des huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, Elles sont en général considérées comme des déchets du métabolisme ou des sous produits de l'activité métabolique d'une plante (**Amiot, 2005**). Cependant plusieurs de leurs effets utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines. Les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes, favorisant la pollinisation (**Guignard, 2000**). Certains auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal, assurant leur défense et aidant la plante à s'adapter à son environnement (**Fouché, 2000**).

I.3. Propriétés physicochimiques

Liquides à température ambiante, les HE sont volatiles, ce qui les différencie des huiles « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (à l'exception des HE de Sassafras, de Girofle ou de Cannelle) Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans les solvants organiques usuels, elles sont liposolubles. Entraînables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau ; elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette (**Bhar, 2011**).

I.4. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des liquides hydrophobes contenant des composés volatils assez complexes. Ce sont des constituants caractérisés par une forte odeur et formés à partir de divers métabolites de plantes appartenant à trois groupes de composés chimiques (**Shagufta et al. , 2018**).

- Les composés terpéniques.
- Les composés aromatiques dérivés du phényle propane.
- Autres composés

I.4.1. Composés terpéniques

Les terpènes peuvent être considérés comme des dérivés de l'isoprène : ce sont des isoprenoïdes (**Figure 01**).Après extraction des huiles essentielles, on rencontre seulement les

Rappels bibliographiques

terpènes les plus volatils dont le poids moléculaire est faible, se sont les monoterpènes et les sesquiterpènes (Guinard, 2000).

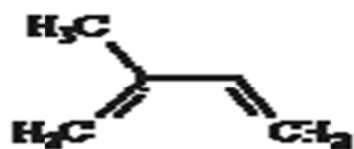


Figure 01: Structure chimique de l'isoprène (Guinard, 2000).

I.4.1.1. Les monoterpènes (C₁₀H₁₆)

Ils représentent la classe la plus simple de la série des terpènes, ils contiennent 10 atomes de carbones. Les monoterpènes ne contribuent pas seulement à donner leurs odeurs et leurs aromes aux plantes aromatiques, mais se révèlent également actifs dans le contrôle des insectes phytophages et sont considérés comme des composés anti-infectieux ; bactéricides, virucides et fongicides (REGNAULT *et al.*, 2005) ; COUIS-MARINIER & LOBSTEINE, 2013).

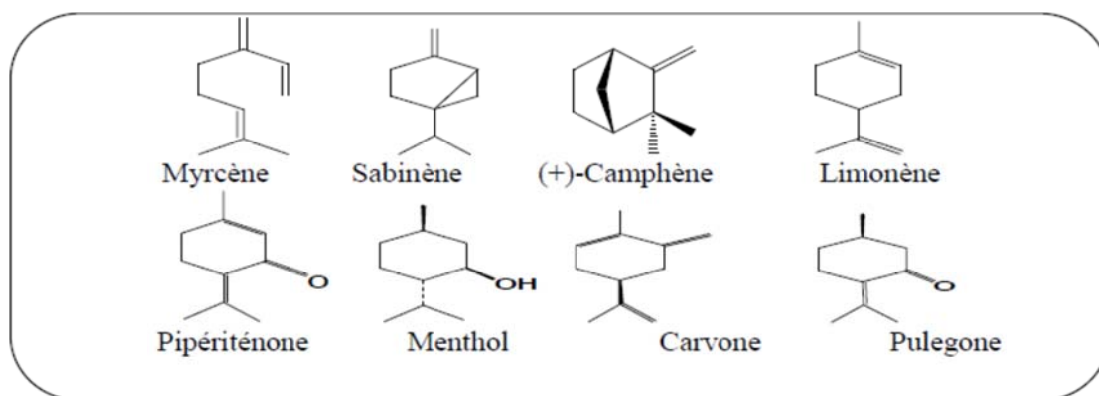


Figure 02 : Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E. (REGNAULT *et al.*, 2005)

I.4.1.2. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des hydrocarbures possédants la formule $C_{15}H_{24}$; ils sont abondants dans les essences dont ils constituent parfois une partie considérable. Ils se distinguent des autres terpènes par leur point d'ébullition plus élevé (250° à $280C^{\circ}$), par une densité plus forte ($d > 0,9$) et par un indice de réfraction plus élevé (**Bruneton, 2005**).

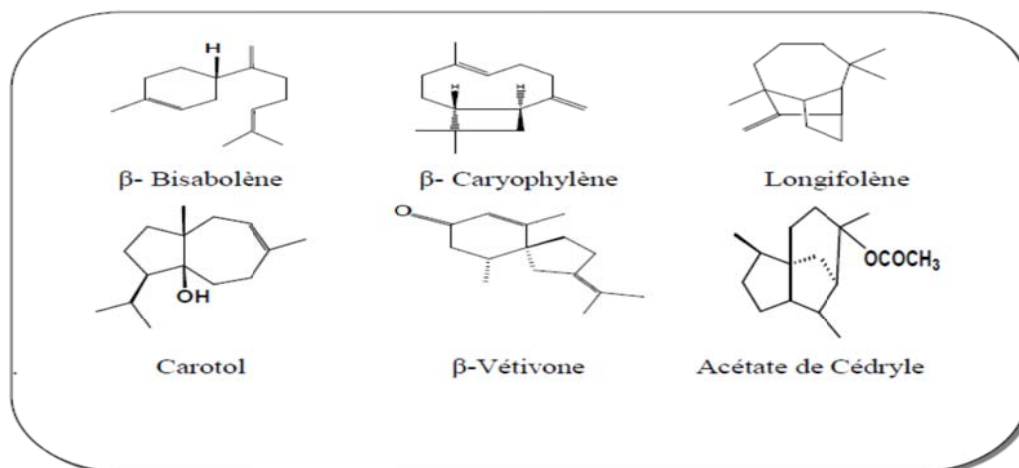


Figure 03 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E.

I.4.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles (**Figure04**). Ils appartiennent aux différentes classes de la chimie organique : hydrocarbures, alcools, aldéhydes (**BILLERBECK et al ., 2007**). Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HEs .**KUNLE et OKOGUN (2003)**.

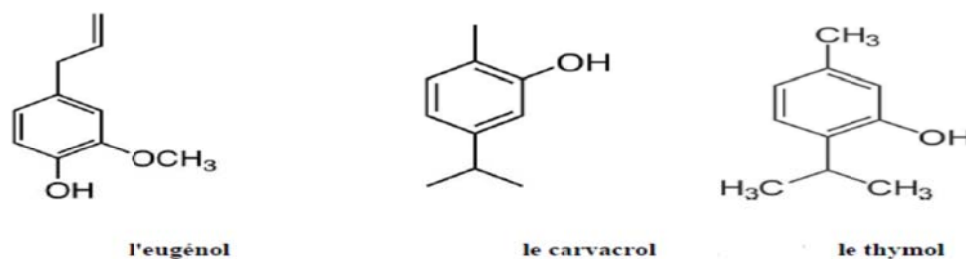


Figure 04 : Structure chimique des principaux composés aromatiques (phénols) extraits des huiles essentielles.

I. 4. 3. Autres composés

Selon le mode d'extraction utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire entraînés lors de l'hydrodistillation : carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters, éthers ...etc. (**Luttge et al., 2002**).

I.5. Paramètres influençant la composition chimique

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au niveau du rendement des plantes d'origine (**Laib, 2011**). Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante (**Bouguerra, 2012**).

I.5.1. Facteurs intrinsèques

Les cellules productrices d'huile essentielle peuvent se situer dans différents organes. Il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante. Ainsi, les huiles essentielles extraites à partir des baies et des feuilles de piment par exemple, ne sont pas identiques. Les travaux de (**Maffei et Sacco, 1997**), ont montré des différences de composition des huiles essentielles issue d'organes différents (feuilles, fleurs) et de sous-espèces différentes. Le stade végétatif au moment de la récolte est également un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'huile essentielle (**Laib, 2011**).

I.5.2 Facteurs extrinsèques

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des huiles essentielles (la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques). Elles représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée. Il y a eu pas mal des travaux ayant mis en évidence l'influence de l'origine géographique sur la composition de la matière première.

Il faut aussi signaler que le stockage des matières premières, et même la méthode d'extraction et l'état du matériel végétal peuvent influencer la composition et le rendement des huiles essentielles (**Bouguerra, 2012**).

I.6. Propriétés biologiques

Plusieurs travaux ont démontré des effets similaires des huiles essentielles à ceux des antibiotiques car elles sont dotées des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antioxydants. C'est des molécules qui améliorent la digestibilité et l'immunité, favorisent la santé intestinale en minimisant l'effet des bactéries pathogènes. Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**Omonijo et al., 2018**).

I.6.1. Effets antibactériens

Selon (**Ghasemi Pirbalouti et al., 2010**), l'utilisation des HEs comme agents antibactériens semble être une alternative intéressante pour contrôler la présence des bactéries pathogènes dans les aliments.

Grace à leurs caractères lipophiles, les huiles essentielles sont capables de traverser la membrane cellulaire et dégrader les couches de polysaccharides, de phospholipides et d'acides gras, ce qui conduit à des dommages au niveau de la membrane et l'augmentation de sa perméabilité. Chez les bactéries, la perméabilité de la membrane est due à la perte d'ions à la réduction du potentiel membranaire et à l'effondrement de la pompe à protons. En outre, les huiles essentielles peuvent coaguler le cytoplasme et endommager les lipides et les protéines. Ces dommages de la paroi et de la membrane cellulaire entraînent des fuites des macromolécules et une lyse de la cellule bactérienne (**Dhifi et al., 2016**).

Généralement, les huiles essentielles ont un plus grand effet contre les bactéries pathogènes à Gram positif que les bactéries à Gram négatif, car les composés hydrophobes qui peuvent traverser les structures lipopolysaccharidiques de la bactérie Gram négatif sont limités en raison de leur membrane externe recouvrant la paroi cellulaire (**Omonijo et al., 2018**).

I.6.2. Activité antifongique

Les huiles essentielles ou leurs composés actifs peuvent être employés comme agents de protection contre les champignons et les micro-organismes envahissant la denrée alimentaire (**Juarez et al., 2016**).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *lamiacées* comme l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* testée contre *Candida albicans* (**Giordani et al., 2008**), *Lavandula stoechas* contre

Rhizopus stolonifer et *Mucor* spp.(**Mohammedi et Atik, 2011**) et *Thymus schimperi* contre *Rhizopus officinalis* (**Awol Mekonnen et al.,2016**).

I.6.3. Propriétés antioxydantes

Depuis une quinzaine d'années, la recherche d'antioxydants naturels a suscité beaucoup d'intérêt. Par conséquent, les huiles essentielles sont considérées comme des ressources potentielles de molécules bioactives naturelles, qui ont été étudiées pour leurs propriétés antioxydantes.

Les composés phénoliques, comme le thymol, le carvacrol et l'eugénol font partie des molécules des HE présentant les plus fortes activités antioxydantes ainsi que d'autres composés qui contribuent à cette activité tels que les monoterpènes alcools, cétones, aldéhydes, hydrocarbures et éthers (**Gabriel et al., 2013**).

I.7. Mode d'action des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle dépend de sa composition chimique, des groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcool, phénol, composés terpéniques et cétoniques), des synergies entre les différents composants, de la nature des structures chimiques qui la constituent et de leurs proportions qui jouent un rôle déterminant (**Lahlou, 2004 ; Pibiri, 2006**).

Cependant, les composés chimiques ayant un large spectre d'action et le plus d'efficacité sont, les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools (linalol, terpinéol), les aldéhydes, les cétones et les terpènes (**Dorman et Dean ,2000**).

Les constituants tels que le carvacrol et le thymol présents dans le thym exercent une activité antimicrobienne à large spectre contre les bactéries à Gram négatif et les bactéries gram positives, les champignons et les levures.

I.8. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

Il existe plusieurs techniques d'extraction des huiles essentielles, variables selon la partie traitée de la plante et selon ses caractéristiques botaniques. La méthode choisie doit être celle qui donnerait une huile de très bonne qualité et un rendement élevé avec un coût faible comme l'hydrodistillation (**Figure 05**). Dans ce cas, la plante est mise en contact avec

Rappels bibliographiques

de l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les HES se séparent de l'eau par différence de densité, les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées et, en raison de sa plus faible densité, l'huile essentielle se place au dessus de la phase aqueuse. La phase aqueuse contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat) (Anonyme, 2015).

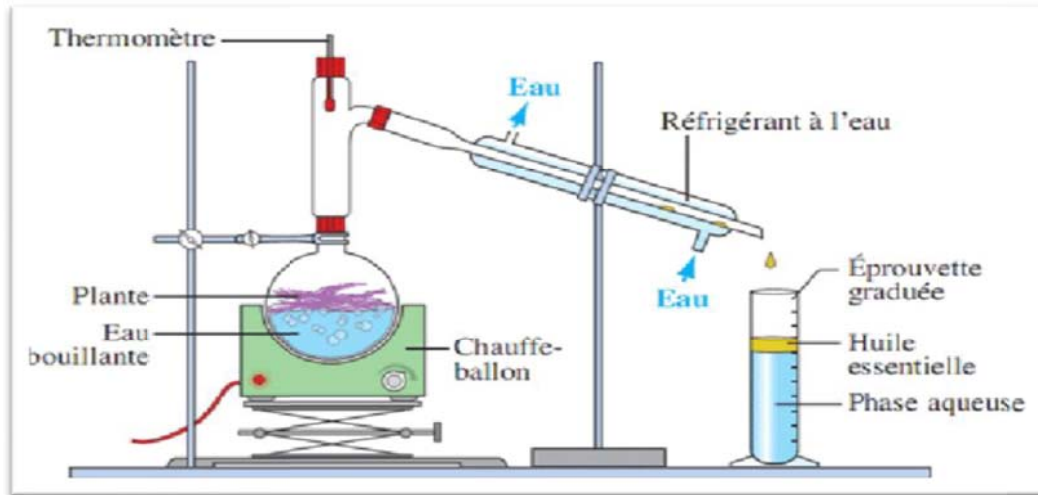


Figure 05: Méthode d'extraction par hydrodistillation (Anonyme, 2015)



Chapitre II : Les plantes aromatiques

Chapitre II : Les plantes aromatique et médicinales

II.1. Définition

D'après la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses". Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. En d'autres termes nous pouvons dire qu'une plante médicinale est une plante dont un des organes, possèdent des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise (Chabrier, 2010).

II.2. *Salvia officinalis*

II.2.1. Description botanique

C'est une plante annuelle et vivace qui appartient à la famille de Labiées (Goutier, 2009). Elle forme un petit sous arbrisseau de 50 cm à 80 cm de haut à racine ligneuse, brunâtre et fibreuse avec des feuilles opposées, ovales, rugueuses, épaisses, à bord dentelé et réticulées. Les feuilles persistent à l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège (Hans et al., 2007). Les fleurs de la sauge officinale sont bleu-violacé en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés. Elles sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieure (Madi, 2010).



Figure06: Photographies de *Salvia officinalis*

II.2.2. Classification taxonomique

Cette plante vivace originaire des régions méditerranéennes orientales appartient à la famille des Labiacées (**Djerroumi et Nacef, 2013**)

Il existe plus de 600 variétés de sauge à travers le monde, mais la sauge officinale est celle qui possède les plus intéressantes vertus médicinales. La sauge officinale est connue sous d'autres noms : Grande Saugue, herbe sacrée, thé de Provence, d'Europe, de France ou de Grèce, salbia, ou essalmia. En Algérie, on l'appelle « souek ennebi » ou encore langue de chameau dans les autres pays arabes (**Goutier, 2009 ;Madi, 2010**).

Tableau 02 : Systématique de *Salvia officinalis* (**Madi, 2010**)

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis L.</i>

II.2.3. Répartition géographique

La sauge est une plante qui préfère les terrains chauds et calcaires. Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde: à l'Amérique centrale et latine (530 espèces), en Asie centrale et en régions méditerranéennes (250 espèces), en Afrique du Sud (30 espèces) et en Asie de l'Est (90 espèces) (**figure07**) (**Walker et al., 2004**).

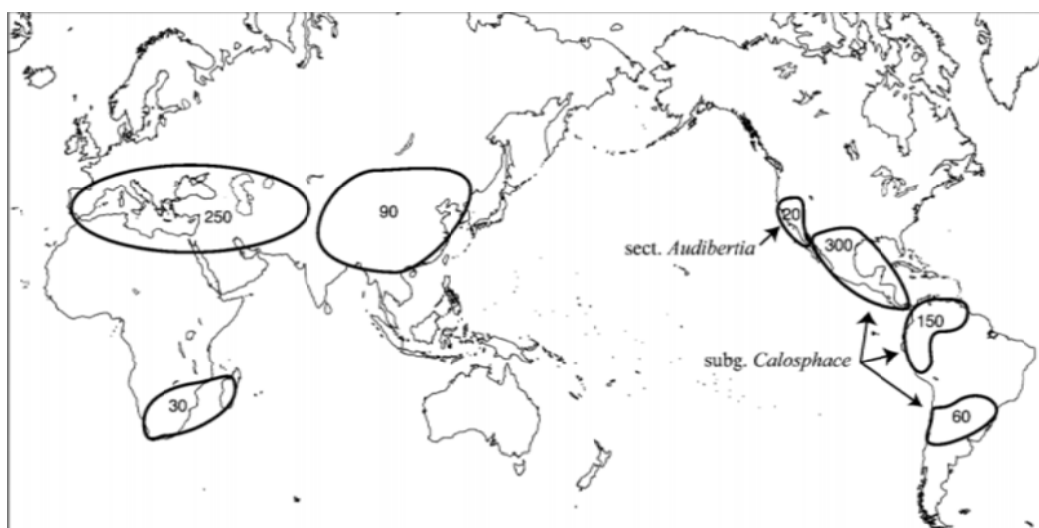


Figure07 : Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde (Walker *et al.*, 2004).

II.2.4. Propriétés thérapeutiques

Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie: *Salvia* vient de *salvare* qui, en latin, signifie «guérir». Sa saveur est chaude, amère et astringente, elle agit contre les maux de gorge, les troubles de la digestion, elle est stimulante, tonique et stomachique. La sauge possède aussi à divers degrés des propriétés antispasmodiques, fébrifuges, antisudorales et emménagogues (action bénéfique sur les menstruations) (Duke *et al.*, 2002). L'huile essentielle de la sauge officinale est neurotoxique, pouvant provoquer des crises nerveuses rappelant l'épilepsie, ainsi que des vomissements. Le thymoneet le camphre en sont responsables. Elle est par ailleurs bactéricide et elle est à éviter lors de la grossesse (risque de fausse couche) ou de l'allaitement (Jean-Michel, 2012).

La composition chimique de huile essentielle de la sauge déterminée par la méthode chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG / SM). Indique que l'huile contient 5% de tanin , un principe amer , 5,60 % de résine , 6 % de gommes , du mucilage ,des acides phosphoriques ,oxalique ,des nitrates , 9 % de pentosane , des traces d'asparagine et 1,5 à 2,5% d'huile essentielles dite huile de sauge , renfermant de la thylene ,du bornéol , du cinéol , du camphre , des terpènes et picrosalvine (Bogrow, 2009).

II.3. *Mentha pulegium*

II.3.1. Description botanique

C'est une plante qui appartient à la famille des *Lamiacées* (*Lamiaceae*) qui atteint une hauteur de 10 à 30 cm, les tiges à section carrée, sont plus ou moins dressées, verdâtres ou grisâtres, très ramifiées, fortement aromatique à odeur piquante avec des feuilles opposées, petites, ovales ou oblongues presque entières (légèrement dentelées) et munies d'un court pétiole(**Figure08**). Elle possède des fleurs lilas, de 4,5 à 6 mm de long, qui apparaissent l'été, de juillet à fin septembre, parfois rose et d'autres fois blanches échelonnées le long de la tige.

Elle possède des verticilles à l'aisselle des feuilles supérieures et moyennes avec un calice velu, nettement cannelé, poilu dans la gorge, les 2 dents inférieures plus étroites. Elle est toxique à forte dose et peut provoquer l'avortement. Cette plante a aussi la particularité d'être insecticide (**Lahrech ,2010**).



Figure08 : *Mentha pulegium* (*Menthe pouliot ou Flio*) original

II.3.2. Classification taxonomique

Mentha pulegium est fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. C'est une espèce spontanée dans l'ensemble de l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le nord de l'Afrique (du Maroc à l'Égypte).

Mentha pulegium est très répandue dans l'aire méditerranéenne et elle est connue sous le nom de « menthe pouliot – Fliou en berbère ». Elle est fréquente dans les milieux humides ou elle est cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques.

C'est une espèce spontanée dans l'ensemble de l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le nord de l'Afrique (du Maroc à l'Égypte). En Algérie, *Mentha pulegium* est très abondante et pousse spontanément (bouhaddouda ,2016).

D'après (Quézel et Santa, (1963) et Guignard et Dupont, (2004)), la systématique de *Mentha pulegium* est la suivante :

Tableau 03 : Taxonomie de *Mentha pulegium*

Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha pulegium</i> (L)

II.3.3. Propriétés thérapeutiques

Depuis l'antiquité, les menthes conservent une grande diversité d'emplois et occupent une large place dans la thérapeutique (**Benayad, 2008**).

La menthe, est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures (**Diaz-Maroto et al. 2007**). Les parties aériennes fleuries de cette plante sont utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes, expectorantes, carminatives et antispasmodiques dans le traitement du rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, le choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales (**Delille, 2007**).

II.4. *Juniperus phoenicea*

II.4.1. Description botanique

Le genévrier de Phénicie appartient à la famille des cupressacées. C'est un arbre ou arbrisseau qui peut avoir cinq à dix mètres de hauteur (**Huguette, 2008**). Cette espèce est monoïque, rarement dioïque à feuillage persistant et aromatique (**Abdelli, 2017**). La floraison a lieu pendant l'hiver et la fructification à la fin de l'été de l'année suivante. Le fruit est globuleux et devient rouge et luisant à maturité. Les fleurs constituées de cônes mâles et cônes femelles habituellement sur le même pied, mais pouvant être aussi sur des pieds distincts. Les feuilles sont en aiguilles et d'autre en écailles très petite, imbriquée, opposée, formant le feuillage vert persistant (**figure10**) (**Abdelli, 2017**).

Il existe plusieurs noms communs qui désignent *Juniperus phoenicea*, les plus courants sont genévrier de phénicie, Genévrier de lycie appelé également « zimba » (en chaoui) ou « ara'ar » en Algérie (**Abdelli, 2017**).



Figure09 : Feuilles et fleurs de *Juniperus phoenicea*

II.4.2. Classification taxonomique

Le genévrier est une plante gymnosperme appartenant à l'embranchement des spermatophytes (**Tableau 04**) (**Villar, 2011**). Le genre *Juniperus* comprend approximativement 60 espèces avec une variété rigide aux aiguilles piquantes et des variété souple au feuillage en écaille (**Mansouri et al., 2010**). Selon (**Small et al., 2001**) le genre *Juniperus* appartient à la classification suivante :

Rappels bibliographiques

Tableau 04 : Classification botanique de *Juniperus phoenicea*

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophytes
Sous Embranchement	Gymnospermes
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	<i>Cupessaceae</i>
Genre	<i>Juniperus</i>

II.4.3. Répartition géographique

Juniperus phoenicea est une espèce qui se trouve dans les différentes régions du monde, mais il est plus fréquent dans la partie Ouest des régions méditerranéennes au Sud de L'Europe (Adams et al., 1996) et l'Ouest de l'Asie (notamment dans les montagnes de l'Ouest de l'Arabie Saoudite) (El-Sawi et Motawe, 2008). En Afrique du Nord, il pousse en Algérie, au Maroc, en Tunisie ainsi que en l'Égypte (Derwich et al., 2010). En Algérie, il est abondant sur les hauts plateaux et l'atlas saharien de l'oanais, dans la montagne des aures, notamment dans le sud de ce massif (Abdelli, 2017).

II.4.4. Propriétés thérapeutiques

Cette espèce est l'une des plus importantes plantes médicinales du fait qu'elle soit largement employée en médecine traditionnelle. Des études ont montré que l'espèce contient de la résine,

Rappels bibliographiques

des acides gras, des tannins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols, triterpènes et des glucides (**Abdelli, 2017**).

Les branches feuillées sont exploitées pour la production de goudron végétal pour traiter certains cas d'eczéma et en inhalation contre l'asthme, bronchite, maux de tête, étourdissement et pour contrôler l'arthrite (**Abdelli, 2017**). Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction contre le diabète, la diarrhée et le rhumatisme, alors que le fruit sèches et réduit en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (**Mansouri et al., 2010**). De plus, elle possède des propriétés diurétiques mises a profit pour combattre toute sorte de maladies du système urinaire (infection et inflammations, calculs, goutte, etc.) (**Bouyahyaoui, 2017**).



Chapitre III : Les microorganismes pathogènes

Chapitre III : Les microorganismes pathogènes

III.1. Les moisissures

Les moisissures sont des champignons pluricellulaires microscopiques ubiquistes, à croissance filamenteuse, qui regroupent des milliers d'espèces. Le terme familier de « moisissures » fait généralement référence à leur texture laineuse, poudreuse ou cotonneuse, qui peut être observée à divers endroits (**Lin SJ et al., 2001**). Les moisissures produisent des structures de reproduction appelées spores ; celles-ci sont invisibles à l'œil nu. Elles peuvent également élaborer des substances chimiques susceptibles de demeurer à l'intérieur des spores, d'être libérées dans les matériaux qu'elles colonisent (ex. : enzymes, mycotoxines) ou encore d'être libérées dans l'air ambiant (ex. : composés organiques volatils).

III.1.1. Le genre *Aspergillus*

Aspergillus est un champignon filamenteux cosmopolite et ubiquitaire. Il appartient à la classe des Ascomycetes, de l'ordre des Plectomycètes et de la famille des Aspergillacées.

Il est le plus souvent saprophyte, parfois responsable d'infections opportunistes (il n'est habituellement pathogène que chez l'hôte immunodéprimé). Les maladies aspergillaires sont provoquées à 80 - 90 % par *Aspergillus fumigatus*, en raison de sa thermo tolérance. Ensuite par ordre décroissant, on trouve *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus* qui sont plus rares.

C'est une moisissure thermophile se développant dans une plage de température comprise entre 12 °C et 58 °C avec une croissance optimale à 40 °C. Lors de sa croissance, il produit des millions de spores transportées par le vent. On le retrouve dans les liquides (en particulier les climatiseurs, les humidificateurs d'air (**Kume et al., 2003**)).

III.1.2. Le genre *Penicillium*

Ces champignons poussent facilement sur les milieux standards utilisés en mycologie. Leur croissance est rapide, la colonie est habituellement duveteuse, poudreuse, de couleur variable, le plus souvent verte, mais parfois grise, jaune ou rose. Le revers est incolore ou foncé (**Denning DW, 1998**).

Les hyphes septés, hyalins, portent des conidiophores simples ou ramifiés, parfois regroupés en buisson ou corémie. Les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores. Elles sont insérées directement (*Penicillium* monoverticillés) ou par

l'intermédiaire d'une rangée de métules (*Penicillium* biverticillés) ou de deux rangées successives de métules (*Penicillium* triverticillés) sur les conidiophores. Les phialides sont serrées les unes contre les autres, l'ensemble donne une image de pinceau (ou pénicille).

Les phialides donnent naissance à des spores unicellulaires disposées en chaînes (chaînes basipètes, non ramifiées). Les conidies sont rondes à ovoïdes, hyalines ou pigmentées, lisses ou échinulées, mesurant de 2 à 4 µm de diamètre (**Denning, 1998**).

III.2. Les bactéries

L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Parmi ces microorganismes on retrouve les bactéries qui sont soit des hôtes naturels de l'homme et donc saprophytes (flore digestive par exemple), soit elles déterminent une infection et donc pathogènes (**Khiati, 1998**).

III.2.1. Genre *Pseudomonas*

Les bactéries de cette famille sont des bâtonnets, mobiles par cils polaires, aérobies strictes appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*. Les *Pseudomonas* se cultivent facilement sur les milieux usuels, en aérobiose, à la température de 30°C, certaines espèces comme *P.aeruginosa* sont capables de croître à 41°C et même 43°C; ce caractère étant utilisé pour le diagnostic. La production d'un pigment est assez commune dans le genre.

Ces bactéries sont capables d'utiliser une variété très large de substrats comme source de carbone et d'énergie. Ceux-ci comprennent les glucides, lipides, acides aminés, acides organiques, et aussi un grand nombre de corps aromatiques benzéniques, phénoliques, terpénique, des stéroïdes, etc.

Dans le genre *Pseudomonas* quelques espèces se signalent à l'attention, du fait de leur pouvoir pathogène opportuniste. *P.aeruginosa*, l'espèce type, est un germe ubiquiste communément rencontré dans le sol et plus encore dans les eaux, capable de se multiplier à 41°C contrairement à *P.fluorescens* et *P.putida*. Fréquemment isolé sur la peau et les muqueuses de l'homme ou de l'animal, il est aussi particulièrement résistant aux antibiotiques et même aux antiseptiques. En milieu hospitalier il est à l'origine de surinfections et de suppurations locales ou profondes, isolé essentiellement chez des patients présentant une immunodéficience locale ou générale (brûlés, cancéreux, etc.), et très fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales (infections pulmonaires, cutanées...) (**Leclerc H et al., 1995**)

III.2.2. Genre *Escherichia*

Ce genre comprend 5 espèces, mais *E.coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents. *E.coli*, un hôte commun de l'intestin de l'homme, et des animaux; elle est recherchée à ce titre, comme germe témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments.

Certaines bactéries sont responsables d'infections intestinales (gastroentérites et diarrhées), leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. On retrouve les *E.coli* entéropathogène (diarrhées infantiles), *E.coli* entérotoxigène (turista), *E.coli* entéroinvasif (invasion des cellules intestinales), *E.coli* entérohémorragique (diarrhées sanglantes), *E. coli* entéroadhérent (diarrhée du voyageur).

D'autres sont responsables de méningites néonatales, et provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes (**Leclerc H et al., 1995**).

III.2.3. Les *Proteus*

Ils sont caractérisés par leur grande mobilité, et sont vraisemblablement d'origine tellurique. Certaines espèces d'intérêt médical tels *P.mirabilis*, *P.vulgaris*, *Morganella morganii*(ancien *Proteus morganii*), peuvent induire des infections des voies urinaires (dans 60% des cas d'infections urinaires), des infections cutanées (surinfections des plaies chirurgicales, brûlures...), des infections des voies respiratoires (otites chroniques suppurées, sinusites ...), et même des septicémies (**Berche et al., 1989**).

III.2.4. Genre *Staphylococcus*

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et se cultivent sur des milieux contenant le NaCl. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils le sont plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutano – muqueuses des mammifères.

Rappels bibliographiques

Il existe une certaine relation entre les espèces de staphylocoques et l'hôte qui les héberge. *S.aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et autres mammifères. La cavité nasale de l'homme est sa niche préférentielle.

Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. L'espèce *S.aureus*, responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses (furuncle, impétigo, staphylococcie maligne de la face, staphylococcies bulleuses, etc.), mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives (entéocolites post-antibiotiques), septicémiques. *S.epidermidis* est un agent de plus en plus fréquent des infections nosocomiales (**Leclerc et al., 1995**).

A decorative graphic of a scroll with a light green border and rounded corners. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving upwards. The text is centered within the scroll.

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes




Cette étude expérimentale a été réalisée en collaboration entre le laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Akli Mouhand Oulhadj de Bouira, et le laboratoire d'analyse médicale du Docteur Sayah, (Bouira) pendant une période allant de 26 février à 25 mai 2019. Ce travail a été entrepris dans le but d'évaluer l'activité antifongique et antibactérienne de trois huiles *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Jniperus phoenicea*.

II.1. Matériel

II.1.1. Huiles essentielles

Le matériel végétal utilisé dans notre travail est composé de trois huiles essentielles (tableau 05). Ces extraits ont été achetés au niveau d'un producteur local dans la wilaya de Blida. Le mode d'extraction utilisé était l'hydrodistillation des parties aériennes. Les huiles essentielles ont été conservées dans leurs flacons d'origine (ambrés) à 4°C pour éviter leur dégradation.

Tableau 05 : Liste des huiles essentielles utilisées.

			
Nom Scientifique	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>
Famille	Labiaceae	Labiaceae	<i>Cupessaceae</i>

II.1.2. Matériel biologique

II.1.2.1. Souches bactériennes

Quatre souches ont été utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*. Parmi elles une est à Gram+ (*Staphylococcus aureus* ATCC25923) et les autres sont des Gram- : *Escherichia coli* (ATCC255922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Proteus vulgaris*. Ces souches sont responsables de l'apparition de plusieurs maladies humaines (**Tableau06**).

Tableau 06 : description et pouvoir pathogène des souches bactérienne (**Chaouche, 2014**) ;(**Beddou, 2015**) ;(**Bouzidi, 2016**).

Groupe	Espèce	Habitat préférentiel	Pouvoir pathogène
Bacille Gram-	<i>Escherichia coli</i>	Matières fécales,Aliments contaminés et eaux usées	Infections urinaires et Gastroentérites
Bacille Gram-	<i>Proteus vulgaris</i>	Le sol, l'eau et les matières fécales	Plaies et Infections urinaires
Bacille Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Aliments contaminés, eaux usées et les milieux humides	Infections urinaires, cutanée et pulmonaires
Cocci Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	Nez, peau, air et Aliments contaminé	Infection nosocomiales et infection cutanés

II.1.2.2. Souches fongiques

Dans l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*, six souches ont été testées : *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus cabonarius*, *Aspergillus tamarrii*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* et *Penicillium* sp. (**Tableau07**). Cessouches ont été fournies par le Laboratoire de

Matériel et méthodes

Biologie des Systèmes Microbiens, département de Biologie (Ecole normale supérieure de Kouba, Alger, Algérie).

Tableau 07 : Description et pouvoir pathogène des souches fongiques (**Beddou, 2015**) ;(**Bourouda, 2010**).

Espèce	Habitat préférentiel	Pouvoir pathogène
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Des zones de sol riche en matière végétal	Aspergillose chez l'homme
<i>Aspergillus carbonarius</i>	Dans les raisins	Production de l'ochratoxine en tant que possible toxine cancérogène pour l'homme
<i>Aspergillus tamarii</i>	Des zones de sol	Aspergillose
<i>Aspergillus fumigatus</i>	L'air, sol, céréales, matières organiques	Chez les humains l'aspergillose broncho-pulmonaire et l'aspergillome.
<i>Aspergillus flavus</i>	sol, céréales.les plantes	Aspergillose chez l'homme
<i>Penicillium</i>	Sol, denrée alimentaire, les grains.les fruits	Maladies des voies respiratoires supérieures et inférieures.

II.1.3. Matériel non biologique

II.1.3.1. Verrerie et appareillage

Le matériel utilisé dans notre étude est le suivant :

Tableau 08 : Verrerie et appareillage utilisé au laboratoire.

Verrerie	Appareillage
<ul style="list-style-type: none">• Lames et lamelles• Les tubes à essai• Boîtes de Pétrie• les flacons• Papier wattman ($\varnothing=6\text{mm}$)• Bêchers(SCHOTT)• Pipette Pasteur	<ul style="list-style-type: none">• Bain Mari• Vortex• Bec Bunsen• Balance de précision (Scout tM SE)• Agitateur magnétique (Stuart)• Microscope optique (OPTIKA)• Etuve (venticell)• Autoclave (wiseclave^R)• Micropipettes (10μl et 100 μl)

II.1.3.2. Les Réactifs

Les produits utilisés dans notre expérimentation sont :

- **les antibiotiques** : Gentamicine, Amoxiciline, Ampiciline, chloromphénicole.
- **Les produits chimiques** : Agar Agar, acétone, tween 80, glucose, éthanol, le violet de gentiane, alcool lugol, fuschine

II.1.3.3. Les milieux de culture

Les milieux de culture que nous avons utilisé dans la partie expérimentale sont: Milieu Mueller-Hinton(MH) pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes et la gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA), favorable pour la croissance des champignons phyto- pathogènes. La composition de ces milieux de culture figure dans l'annexe.

II.2. Méthodes

II.2.1. Observation morphologique des souches

a) Etude macroscopique

Cet examen est basé sur l'observation à l'œil nu de plusieurs caractères culturels des colonies ; leur viscosités, le diamètre, le contour, le relief, la couleur des colonies.

B) Etude microscopique des champignons

Lors de l'analyse microscopique des colonies, plusieurs structures des champignons filamenteux sont observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores.

Le thalle végétatif peut être : septé (diamètre étroit et régulier de 2 à 5 μm) ou siphonné (filaments peu ou pas ramifiés, diamètre large et irrégulier de 5 à 15 μm), paroi pigmentée (mélanisée) ou non (hyaline).

- Les organes de fructifications: présence ou non d'organes protecteurs des conidies, modes de formation des conidies.
- Les spores : endogènes (endospores) ou exogènes (conidiospores ou conidies), l'aspect des spores.

II.2.2. Mesure de densité relative à 20°C

La densité relative de l'HE est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C sur la masse du volume égale d'eau distillée à 20°C. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est **d20** (Boukhatem et al., 2010)

A l'aide d'une balance de précision, on pèse une quantité de 100 μl d'huile essentielle afin d'obtenir son poids exact à une température bien définie.

Pour déterminer la densité de notre essence à 20°C on utilise l'équation suivante :

$$D20 = \frac{\rho_{\text{He}}}{\rho_{\text{eau}}} \quad \text{Avec : } \rho_{\text{eau}} = 1 \text{ g/l}$$

Où :

D20 = Densité à 20°C.

ρ_{He} = masse volumique de l'huile essentiel

ρ_{eau} = masse volumique d'eau

II.2.3. Détermination de l'activité antimicrobienne

II.2.3.1. Activité antibactérienne

Le milieu de culture utilisé est Muller– Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

A) Préparation de l'inoculum

Quelques colonies de souches bactériennes bien isolées ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et déchargée dans 5ml d'eau physiologique stérile, la suspension bactérienne a été bien homogénéisée à l'aide d'un vortex pendant quelques secondes.

L'inoculum doit être standardisé pour obtenir des colonies justes confluentes et sa turbidité ajustée à 0.5Mc Farland, à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625nm ce qui correspond à $1- 2 \times 10^8$ UFC/ml (D.O=0.08 à0.1). La suspension d'inoculum a été diluée à 1/100 dans l'eau stérile pour avoir une concentration de 10^6 germes/ml (**chaouche, 2014**).

B) Ensemencement

Dans des boîtes de Pétri, le milieu MH en surfusion est coulé aseptiquement à raison de 15 ml par boîte. Après solidification, la suspension bactérienne fraîchement préparée est étalé à la surface de la gélose un avec un écouvillon stérile, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. On laisse sécher les boites pendant 15 à 20 min (**Bellahouel, 2012**).

C) Méthode de la diffusion en puits

On réalise aseptiquement, sur cette couche basale du milieu MH, des puits de 6mm de diamètre. Ces puits seront remplis par déférente concentrations de l'huile essentielle (10, 20,30 μ L). Les boites de Pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h. La lecture de l'activité antimicrobienne se fait par la mesure du diamètre d'inhibition autour du puits, exprimée en millimètre (**Figure 14**).

D) Test d'antibiogramme

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne in vitro. Nous avons utilisé cette méthode afin de savoir l'effet des antibiotiques contre les bactéries étudiées. L'activité antibactérienne des antibiotiques a été évaluée à l'aide de la méthode de disque. Les bactéries ont étéensemencées en surface sur gélose Mueller -Hinton en et les disques d'antibiotiques ont été ensuite déposés en surface du milieuensemencé et incubé à 37 °C pendant 24h .

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles. Les résultats de l'antibiogramme indiquent alors si la bactérie est sensible (S ; **Diamètre compris entre 15à19mm**), Intermédiaire (I : **Diamètre compris entre 9 à14 mm**) ou résistante (R **Diamètre <8mm**) à l'antibiotique. (Poncea et al., 2003).

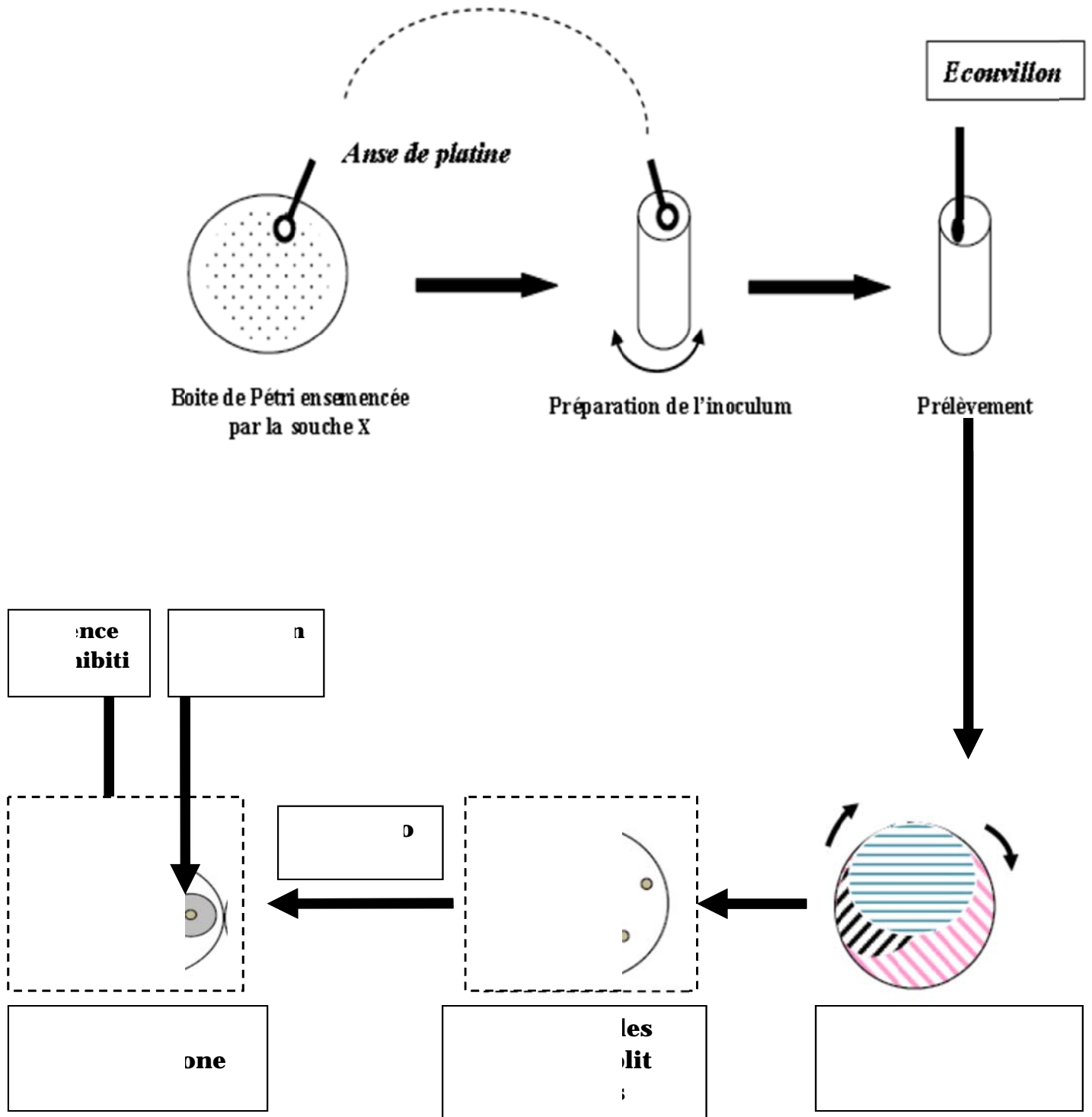


Figure 10: Schéma présente les étapes expérimentales de l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.

II.2.3.2. Activité antifongique

L'activité antifongique a été évaluée par la méthode de dilution en milieu solide pour déterminer les taux d'inhibition de la croissance et en milieu liquide pour déterminer la CMI.

II.2.3.2.1. Détermination des taux d'inhibition de la croissance.

Cette technique a été appliquée dans des boîtes de Pétri de 6 cm pour déterminer et les taux d'inhibition de la croissance radiale. Au début, le milieu PDA stérilisé a été liquéfié et placé dans des tubes à raison de 9,5ml par tube. La concentration des huiles essentielles préparées est de 2 μ L/ml de milieu de culture. 0.5ml de l'huile essentielle diluée dans l'acétone est ajouté. Chaque tube est homogénéisé instantanément par agitation manuelle puis son contenu est versé dans une boîte de Pétri. Le mélange ainsi versé et laissé au repos jusqu'à refroidissement et solidification.

L'ensemencement des souches à testées est fait par dépôt d'un disque mycélien (6mm de diamètre) au centre puis, les boîtes de Pétri sont mises à incuber respectivement pour 7 jours. Des témoins non traités par l'huile essentielle sont préparés dans les mêmes conditions.

Quotidiennement, la croissance de filaments sur chaque boîte est relevée et il est procédé, à la fin du temps approprié (7jours) d'incubation, à une mesure des diamètres de différentes colonies de champignons filamenteux pour calculer le taux d'inhibition (I'%)
(Kordali *et al.*, 2003).

Pour cette méthode, la technique consiste à mesurer les diamètres des différentes colonies de champignons après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation :

$$I' (\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

I' (%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

dC = Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins positifs »

dE = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

II.2.3.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Pour déterminer la concentration minimale inhibitrice chez les champignons, différentes concentrations d'huile essentielle ont été préparées dans le milieu PDB (2 μ L/ml, 1 μ L/ml, 0,5, 0,25, 0,125, 0,06 μ L/ml). Chaque tube a été ensuite ensemencé par la la

Matériel et méthodes

souche à tester. Les tubes ainsi préparés sont incubés à 27° C pendant 7 jours. Après l'incubation, on repère les tubes dans lesquels on ne note aucune croissance de moisissures (la CMI : c'est la concentration minimale pour laquelle on ne note aucune croissance des moisissures). Dans les mêmes conditions expérimentales, les souches fongiques ont été mises en culture en absence d'huile essentielle et ont servies de témoins positifs.



Résultat & discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Étude analytique des huiles essentielles

Les huiles essentielles des plantes étudiées sont très aromatiques. Elles sont liquides et d'une couleur jaune clair à jaune foncé. Les caractères organoleptiques de ces trois espèces végétales ont été notés dans le (**tableau09**) cité ci-dessous.

Tableau09: Aspect, odeur, et couleur des huiles essentielles

Plante			
	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Salvia officinalis</i>	Liquide mobile, fluide	Incolore à jaune pâle	Parfum acidulé
<i>Mentha pulegium</i>	Liquide limpide	Jaune foncé	Forte odeur
<i>Juniperus phoenicea</i>	Liquide fluide	Jaune	Forte odeur

III.1. 2. La densité des huiles essentielles

Les propriétés physicochimiques offrent des indications importantes de la pureté et de la qualité des HE. Ces caractéristiques physico-chimiques de l'HE analysée sont déterminées selon un protocole précis et obéissent à des normes édictées par l'association française de normalisation (A.F.N.O.R), et les résultats obtenus sont portés dans le (**Tableau10**).

Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, on remarque que les HEs sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.

Résultats et discussion

Tableau 10 : La densité des huiles essentielles.


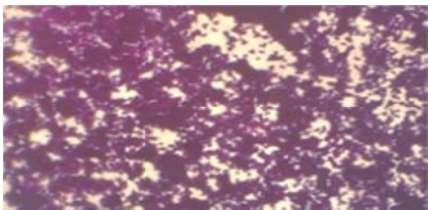
Huile essentiel grandeur	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>
D ₂₀	0,9	0,87	0,91
Norme AFNOR	[0.910 – 0.920]	[0.930 - 0.944]	[0,980 - 0,990]

III.1. 3. Observations morphologiques

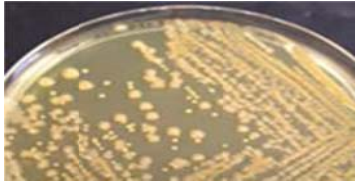
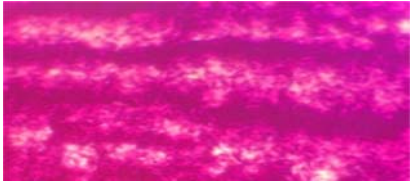



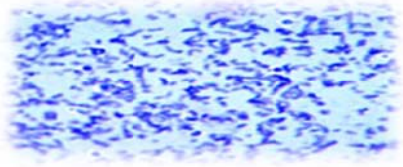
III.1. 3.1. Bactéries

Les résultats de l'observation macroscopique et microscopique, réalisées sur les colonies des bactéries utilisées dans cette étude, développées sur gélose MH à 37°C pendant 24H sont résumés dans (**le tableau11**).

Tableau 11 : Les résultats de l'observation macroscopique et microscopique des bactéries

Caractères Souche	Aspect macroscopique sur gélose	Observation microscopique
<i>S. aureus</i>	 <p>Très petites colonies opaques, jaunes</p>	<p>Cocci en grappe de raisin</p>  <p>Gram positive</p>

Résultats et discussion

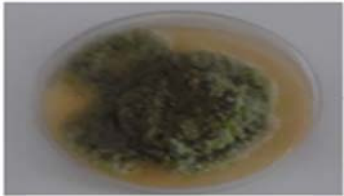


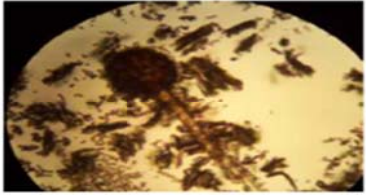
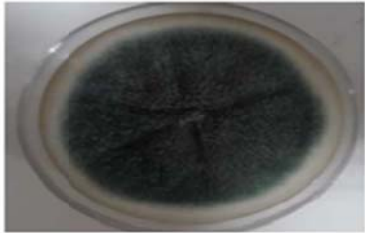

<p><i>E. coli</i></p>	 <p>Grandes colonies jaune d'or, entourées d'un halo jaune.</p>	<p>Coccobacille</p>  <p>Gram négatif</p>
<p><i>P. vulgaris</i></p>	 <p>les colonies plates opaques, bombées, un aspect de pigmentation verdâtre.</p>	<p>Bacille</p>  <p>Gram négatif</p>
<p><i>P.aeruginosa</i></p>	 <p>les colonies plates opaques, bombées, avec un aspect de pigmentation jaune verdâtre.</p>	<p>Bacille</p>  <p>Gram négatif</p>

III.1. 3.2. Souches fongiques

Les résultats de l'observation macroscopique et microscopique réalisées sur les souches fongiques utilisées dans cette étude, développées sur gélose PDA à 25°C pendant 7 jours, sont résumés dans le (tableau 12).

Résultats et discussion

Tableau 12 : Les résultats de l'observation macroscopique et microscopique réalisés sur les souches fongiques

Caractère Souches	Aspect des colonies sur gélose	Observation microscopique
<i>A. flavus</i>	 <p>Colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaunes, puis vert-jaune</p>	 <p>Une Tête aspergillaire bisériée radiée, noire à maturité, les Conidies Globuleuses, brunes, échinulées, souvent disposées en chaîne</p>
<i>A. carbonarius</i>	 <p>Colonies noires</p>	 <p>Une Tête aspergillaire Unisériée, encolonne avec vésicule sphérique</p>
<i>A. fumigatus</i>	 <p>Colonies blanches, puis bleu-vert, puis vert foncé à gris noirâtre</p>	 <p>Une tête aspergillaire unisériée, en colonne, vésicule hémisphérique, les conidies globuleuses, vertes, échinulées, petites</p>

Résultats et discussion

<p><i>A. tamaritii</i></p>	 <p>la Colonies généralement de couleur, brun foncé.</p>	 <p>Les têtes conidiales sont compactes et sphériques ou rayonnent de manière lâche, Conidiophore stipes habituellement de 1 à 2 mm de longueur, hyalin, vésicules sphériques, les conidies grandes sphériques.</p>
<p><i>Penicillium</i></p>	 <p>Colonie poudreuses à duveteuses, généralement de couleur verte . Le revers de la colonie est de couleur jaune</p>	 <p>mycélium septé avec des phialides groupées en pincesaux auxquels sont attachés des conidies.</p>
<p><i>A.parasiticus</i></p>	 <p><i>A.parasiticus</i> se distingue également par sa couleur de colonie vert foncé</p>	 <p>Les conidies sont des parois rugueuses et épaisses, une forme sphérique, des conidiophores, avec de petites vésicules d'une taille moyenne auxquelles les phialides sont directement attachés.</p>

III.1.4. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des trois huiles a été évaluée sur dix souches microbiennes (bactéries et champignons), cette activité a été réalisée par la méthode d'aromatogramme par diffusion en puits pour les bactéries. Le pouvoir antimicrobien a été obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions (D) en millimètre pour les bactéries. Pour les champignons le taux d'inhibition de la croissance radiale et la CMI ont été déterminés.

III.1.4.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne d'huile essentielle de *Salvia officinalis L* et *Mentha pulegium Juniperus phoenicea* est évaluée sur quatre germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *proteus vulgaris*), après 24 heures d'incubation à une température de 37°C.

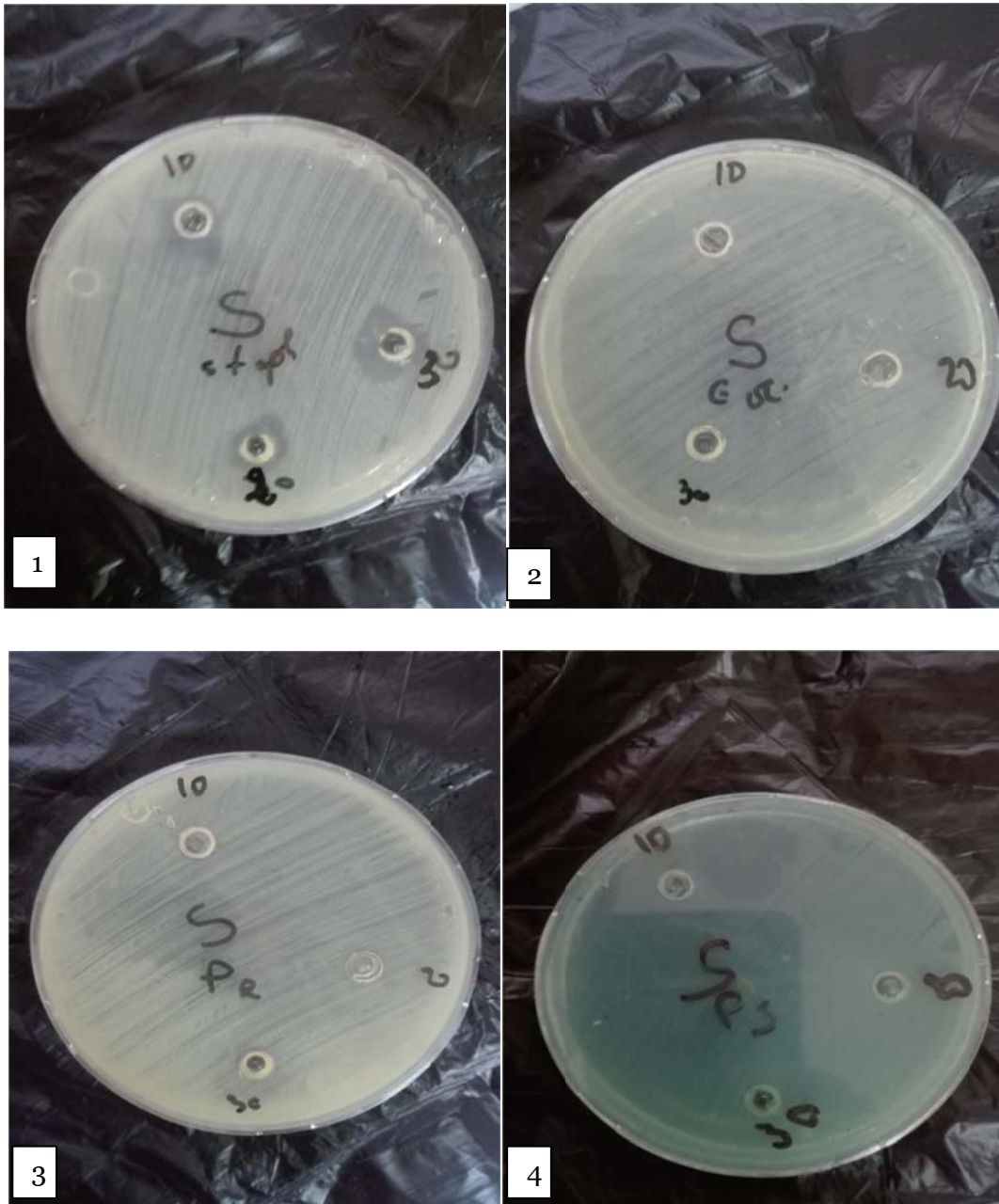


Figure11: Effet de l'huile essentielle de la sauge (*Salvia officinalis* L) sur la croissance de *Staphylococcus aureus* [1], *Escherichia coli* [2], *Proteus vulgaris* [3], *Pseudomonas aeruginosa* [4] sur milieu Mueller Hinton.

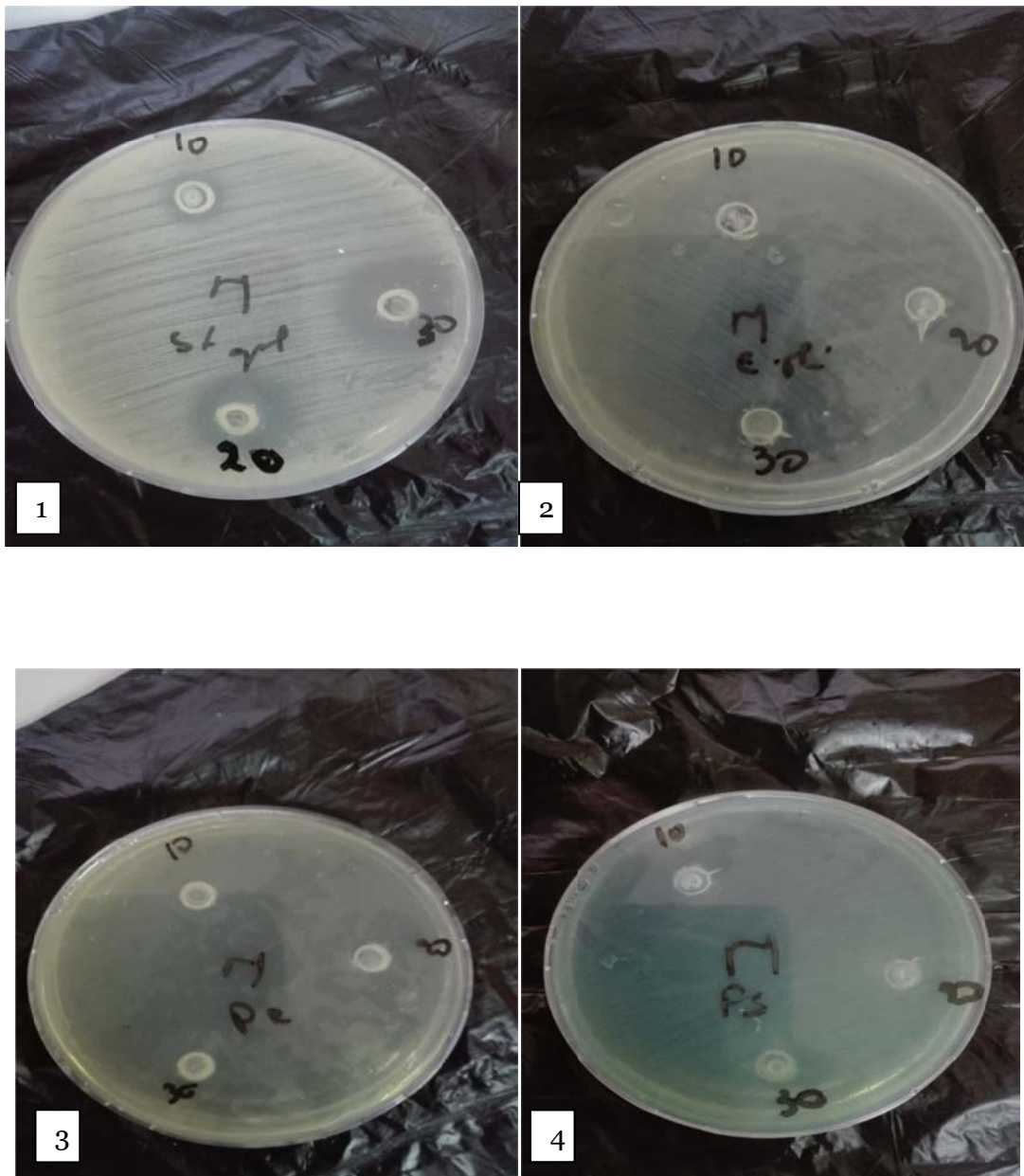


Figure 12: Effet de l'huile essentielle de la menthe (*Mentha pulguim*) sur la croissance de *Staphylococcus aureus* [1], *Escherichia coli* [2], *Proteus vulgaris* [3] et *Pseudomonas aeruginosa* [4] sur milieu Mueller Hinton.

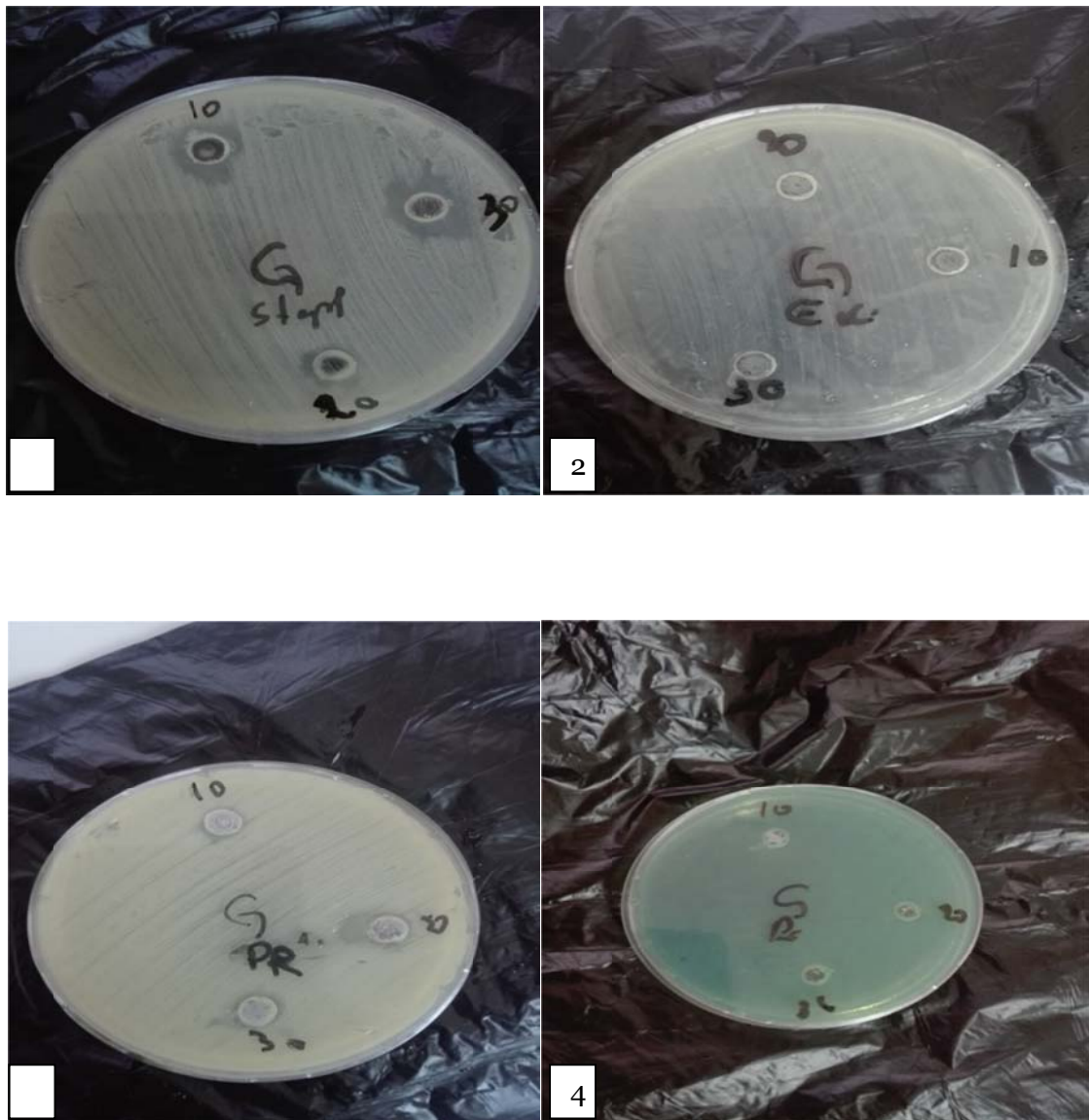


Figure 13: Effet de l'huile essentielle de *Juniperus phonicea* sur la croissance de *Staphylococcus aureus* [1], *Escherichia coli* [2], *Proteus vulgaris* [3] et *Pseudomonas aeruginosa* [4] sur milieu Mueller Hinton.

Résultats et discussion

Tableau13: Diamètre de zone d'inhibition (mm)des huiles essentielles *Mentha puleguim* et *Juniperus phoenicea* et *Salvia officinalis*L. sur *Pseudomonase aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *E .coli* et *Proteus vulgaris*.

Les M.O	Concentration (µl)	Diamètre des zones Inhibitrices <i>S. officinalis</i>	La sensibilité	Diamètre des zones Inhibitrices <i>M. pulguim</i>	La sensibilité	Diamètre des zones Inhibitrices <i>J.phoenicea</i>	La sensibilité
<i>S. aureus</i>	10	12	Sensible	11	Sensible Extrêmement	11	Sensible
	20	13	Sensible	24	Sensible Extrêmement	12	Sensible
	30	14	Sensible	24	Sensible	15	Très Sensible
<i>E. coli</i>	10	-	Non sensible	-	Non sensible	-	Non sensible
	20	-	Non sensible	-	Non sensible	-	Non sensible
	30	-	Non sensible	-	Non sensible	-	Non sensible
<i>P. vulgaris</i>	10	-	Non sensible	-	Non sensible	9	Sensible
	20	-	Non sensible	-	Non sensible	10	Sensible
	30	-	Non sensible	-	Non sensible	12	Sensible
<i>P. aeruginosa</i>	10	-	Non sensible	-	Non sensible	-	Non sensible
	20	-	Non sensible	-	Non sensible	-	Non sensible
	30	-	Non sensible	-	Non sensible	-	Non sensible

D'après Roura et al en 2003 .la sensibilité à l'essence a été classée par le diamètre des halos d'inhibition **Non sensible** (-) pour les diamètres moins de 8 mm, **Sensible** pour des diamètres de 8à14mm, **Très sensible** pour des diamètres de 15à 19 mm. **Extrêmement sensible** pour les diamètres plus de 20 mm

III.1.4.2. Test d'antibiogramme

Les résultats d'antibiogramme obtenus sont résumés dans **le tableau 14** et **la figure 17**)

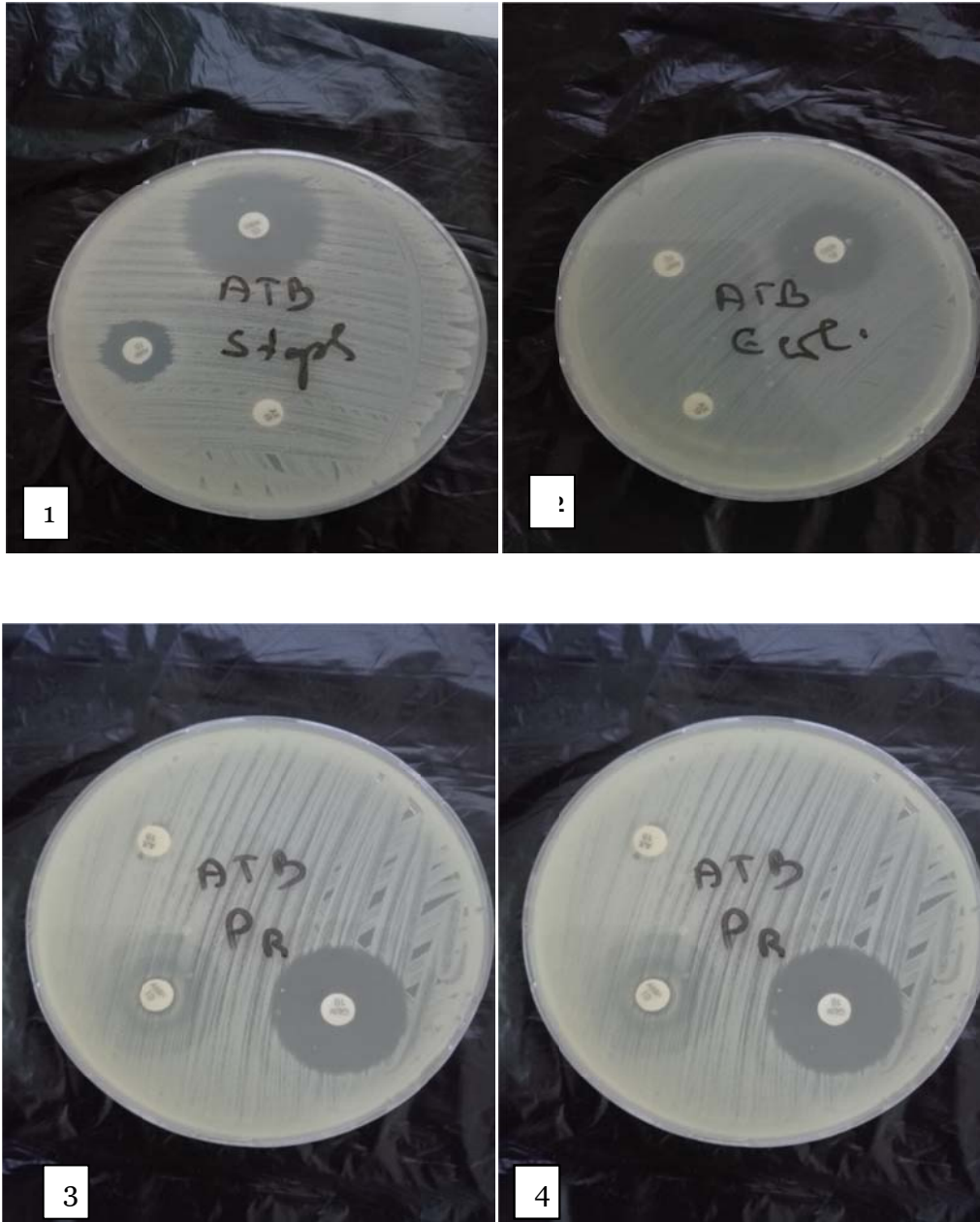


Figure 14: Effet des antibiotiques sur la croissance de *Staphylococcus aureus* [1], *Escherichia coli* [2], *Proteus vulgaris* [3] et *Pseudomonas aeruginosa* [4] sur milieu Mueller Hinton.

Résultats et discussion

Tableau 14 : les résultats de l'antibiogramme

Souche testée	Nom d'ATB	Diamètre (mm)	Catégorie
<i>E.coli</i>	Gentamicine	22	Sensible
	Ampicilline	-	Résistante
	Amoxyciline	-	Résistante
<i>P. aeruginosa</i>	Gentamicine	23	Sensible
	Ampicilline	-	Résistante
	Amoxyciline	-	Résistante
<i>S. aureus</i>	Gentamicine	28	Sensible
	Ampicilline	-	Résistante
	Amoxyciline	15	Sensible
<i>P. vulgaris</i>	Gentamicine	26	Sensible
	Ampicilline	-	Résistante
	Amoxyciline	-	Résistante

AMX=Amoxyciline. GEN=Gentamicine. AMP=Ampicilline.

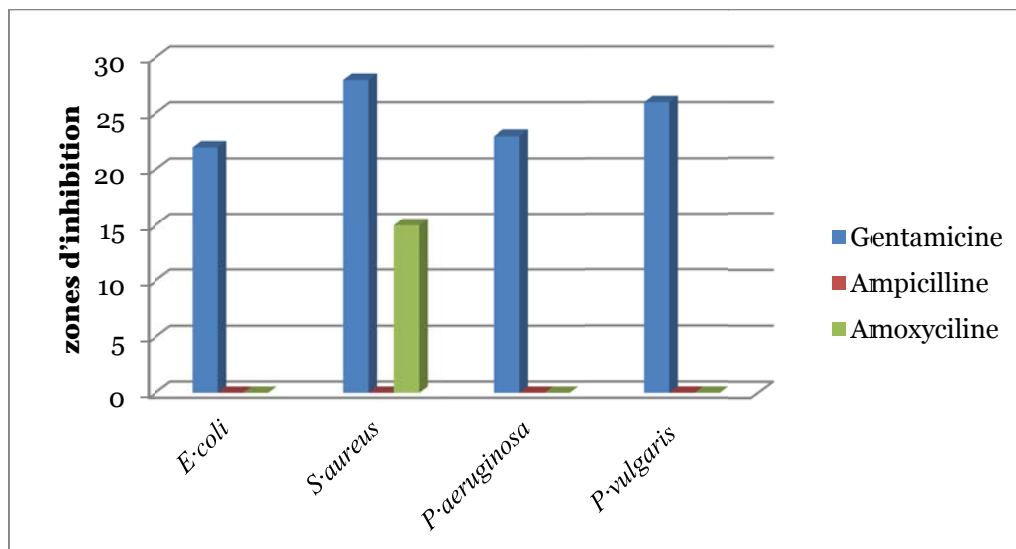


Figure 15 : Histogramme de comparaison des zones d'inhibition

III.1.4.2. Activité antifongique

III .1. 4.2.1. Taux d'inhibition de la croissance

Les taux d'inhibition des huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Juniperus phoenicea* et *Mentha pulguim* sont consignés dans le (tableau 15).

Tableau 15 : Pourcentages d'inhibition de la croissance radiale (2µl/ml)

HE M.O	<i>S. officinalis</i>	<i>J. phoenicea</i>	<i>M. pulguim</i>
<i>A.flavus</i>	26%	6.25%	15.2%
<i>A.parasiticus</i>	7.8%	3.4%	9.7%
<i>A.fumigatus</i>	82.6%	-	33.3%
<i>A.carbonarius</i>	9.3%	-	52.8%
<i>A. tamarii</i>	ND	-	16.6%
<i>Penicillium</i>	8%	14.5%	62.5%

(-) : Absence d'inhibition **ND** : non déterminée

Les huiles essentielles ont eu des activités variables sur les souches filamenteuses testées.

Aspergillus carbonarius et *Aspergillus fumigatus* sont les moisissures les plus sensibles aux huiles essentielles étudiées.

Concernant *Aspergillus flavus* et *A.parasiticus*, les trois huiles essentielles étudiées ont donné des taux d'inhibition inférieur à 50% pour des concentrations d'huiles essentielle de 2µg/ml.

Pour *A.fumigatus* l'huile essentielle de *S.officinalis* a donné des taux d'inhibition de 82.6% et 33.3% pour l'huile de *Mentha pulguim*. Cependant pour l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* on a noté l'absence d'inhibition.

Quant à l'espèce *A.carbonarius*, elle s'est révélée moins sensible à l'huile essentielle de *S.officinalis* avec un pourcentage de 9.3% et d'absence d'inhibition à *Juniperus phoenicea*. *Mentha pulguim* a donné un taux d'inhibition. Intéressant de 52.8% pour des concentrations d'huile essentielle de 2µl/ml.

Résultats et discussion

L'espèce *A. tamaritii* s'est révélée résistante à l'huile essentielle de *S.officinalis* et *Juniperus phoenicea* par contre un tau d'inhibition de 16.6% à été enregistré pour *Mentha puleguim*.

Pour *Penicillium*, les huiles *S.officinalis* et *Juniperus phoenicea* a donné des taux d'inhibition de 8 % et 14.5% resectivement et *Mentha pulguim* a donné des taux d'inhibition de 62.5%.

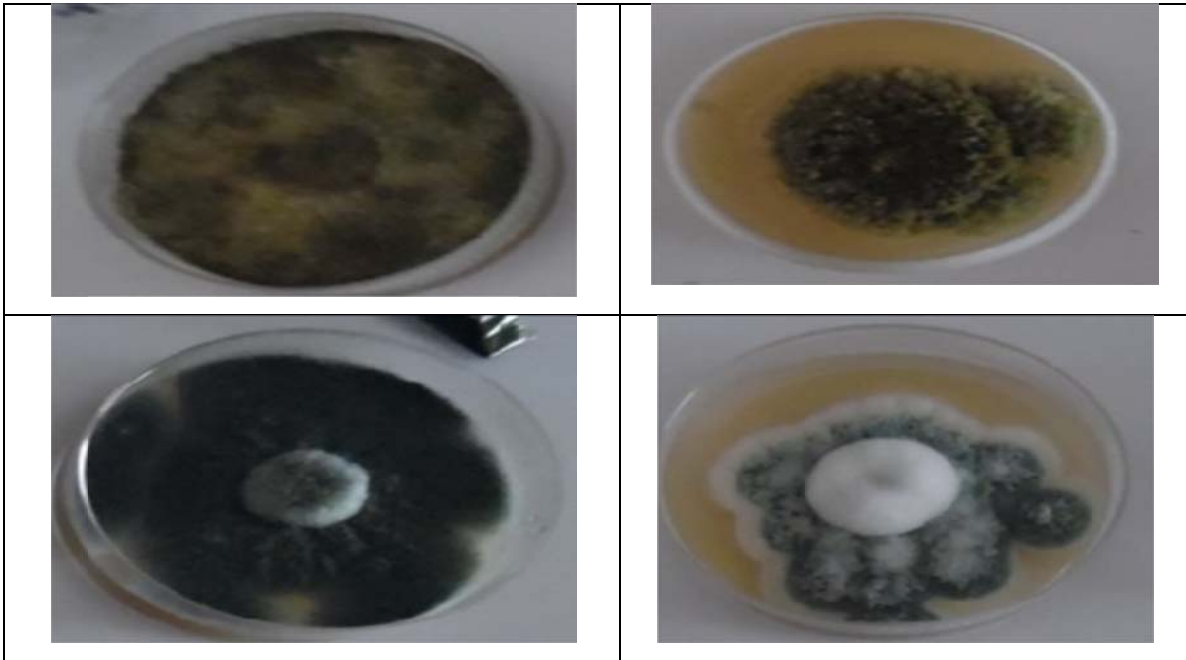


Figure 16 : Inhibition de la croissance radiale par les huiles essentielles chez *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*

III.1 .4.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

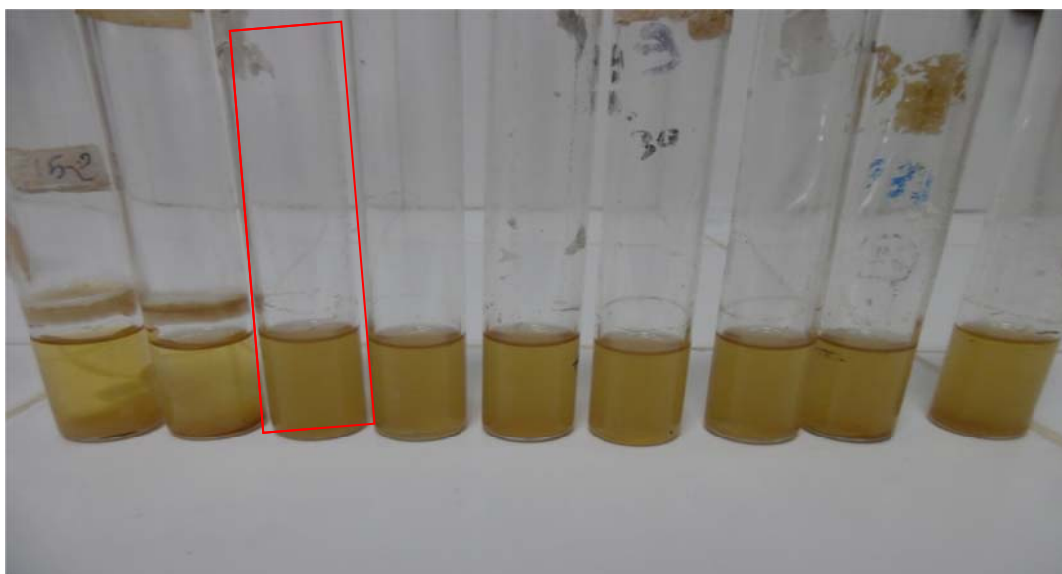


Figure 17: Détermination de la CMI en milieu liquide après incubation de 7 jours à 28°C

Nous rapportons dans (**le tableau 16**) la concentration minimale inhibitrice sur milieu liquide des huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Juniperus phoenicea* et *Mentha pulegium*.

Tableau 16: Concentration de CMI des huiles essentielles de les souches fongiques.

HE \ M.O	<i>s. officinalis</i>	<i>J. phoenicea</i>	<i>M. pulguim.</i>
<i>A.flavus</i>	0.125 ul/ml	<0.06 ul/ml	0.125 ul/ml
<i>A.parasiticus</i>	0.125 ul/ml	<0.06 ul/ml	0.125 ul/ml
<i>A.fumigatus</i>	2 ul/ml	2 ul/ml	1 ul/ml
<i>A.carbonarius</i>	<0.06 ul/ml	0.125 ul/ml	<0.06 ul/ml

Résultats et discussion

La CMI enregistré pour l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur *A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.fumigatus* et *A.carbonarius* sont respectivement de 0.125 ul/ml, 0.125 ul/ml, 2 ul/ml et <0.06 ul/ml.

La CMI enregistré pour l'huile essentielle *Mentha pulegium* sur *A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.fumigatus* et *A.carbonarius* sont respectivement de 0.125 ul/ml, 0.125 ul/ml, 1 ul/ml, <0.06 ul/ml.

La CMI enregistré pour l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* sur *A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.fumigatus* et *A.carbonarius* sont respectivement de <0.06 ul/ml, <0.06 ul/ml, 2 ul/ml, 0.125 ul/ml.

III.2. Discussion

III.2.1. Densité des huiles essentielles

Selon le tableau (X), la densité relative à 20 °C de nos huiles essentielles varie entre 0,87 et 0,91. Cette caractéristique physique est utilisée généralement dans la classification des huiles essentielles. Cette donnée reste toujours non suffisante pour l'identification des huiles. Les résultats obtenus sont conformes à la norme AFNOR.

D'après les résultats des densités obtenue, on peut dire que l'huiles essentiel de *Salvia officinalis* est a la norme édicté par AFNORI doivent avoir une densité 20C°maximale de 0.910 – 0.920. Cependant pour *Mentha pulegium* les valeurs de la densité à 20C° doivent être entre 0.930 à 0.944. Enfin pour l'huile essentiel de *Juniperus phoenicea* est aussi a la norme édicté par AFNOR avec des valeur de densité 20C°allant de 0,980 à 0,990.

La détermination des propriétés physico-chimiques (densité, indice d'acide, indice de réfraction...) est une étape primordiale mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de la compléter par des analyses chromatographiques.

III.2.2. Pouvoir d'activité antimicrobienne (antibactérien)

Etude de l'activité antibactérienne

La méthode de diffusion en puits a permis de mettre en évidence le pouvoir antimicrobienne des huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Juniperus phoenicea* et *Mentha pulegium* vis-à-vis des bactéries testées. La souche de *Staphylococcus aureus* est sensible dans les trois concentrations (10, 20,30 µl) de l'huile essentielle de *salvia officinalis* avec un diamètre d'inhibition qui varier entre 12 et 14 mm. Les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* et *E.coli* étaient résistantes a cette huile essentielle.

Pour *Mentha pulegium*, un effet a été observé chez *Staphylococcus aureus* dans les trois concentrations (10, 20,30µl) testées avec un diamètre d'inhibition qui varie entre 11 à 24mm mais la souche de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* et *E .coli* étaient très résistantes.

Staphylococcus aureus et *Proteus vulgaris* sont sensibles à l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* dans les trois concentrations (10, 20,30µl) testées avec un diamètre d'inhibition allant de 11 à 15mm pourles *S.aureus* et 9-12mm pour *P.vulgaris*. Ces résultats ont montré que *Staphylococcus aureus* était plus sensible suivies de *Proteus vulgaris*, *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Résultats et discussion

Nos résultats sont en accord avec une étude de **PIBERI., (2005)** qui a montré que *S.aureus* est sensible à plusieurs huiles essentielles de différentes plantes aromatiques. Cette sensibilité plus marquée des gram+ par rapport aux Gram négatif vis à vis des HEs a été déjà observée dans plusieurs études antérieures (**COX et al., 2001**)

Les activités biologiques des huiles essentielles sont généralement liées à leur profil chimique et leur potentiel à inhiber la croissance microbienne qui peut être partiellement expliqué par la variation de leur composition chimique (**kamatou et al., 2007**).

Les huiles essentielles sont constituées d'un mélange complexe de molécules différentes et la détermination des constituants responsables de l'activité antimicrobienne est difficile (**Hazzit et al., 2009**). En réalité, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est le plus souvent attribuée à leurs composés majeurs, mais plusieurs recherches ont suggéré que l'effet synergique et antagoniste des composés majeurs et mineurs doit être pris en considération pour expliquer leur activité biologique (**Burt,2004 ;longaray Delamare et al.,2007 ;Zouari et al .,2011 ; Ben Mansour et al.,2013**).

Il a été fréquemment rapporté que les Gram négatives sont moins sensibles que les bactéries Gram positives aux huiles essentielles et leurs composés (**Cardile et al., 2009 ;Ben Mansour et al.,2013**). Cette susceptibilité différentielle à l'effet des huiles essentielles a été attribuée à la présence d'une paroi cellulaire lipopolysaccharidique, chez le groupe Gram négatif, qui limite la diffusion des molécules hydrophobes et empêche leur pénétration à la cellule bactérienne (**Burt,2004 ;Ruiz-Navajas et al.,2012**).

La résistance des bactéries Gram négatives vis-à-vis de l'effet des huiles essentielles est due à la présence d'une paroi lipopolysaccharidique. L'absence de cette barrière chez les bactéries Gram positives permet un contact direct des constituants hydrophobes des huiles essentielles et la bicouche phospholipidique de la membrane cytoplasmique ce qui permet leur solubilisation dans la membrane et provoque une déformation de sa structure et une augmentation de sa perméabilité. Ces modifications entraînent une fuite d'ions et des constituants intracellulaires et des troubles dans le système enzymatique chez la bactérie testée (**Cowan, 1999**).

Cependant Burt (2004) a rapporté que les bactéries Gram + ne sont pas souvent plus sensibles à l'action des huiles. L'inhibition exercée par les huiles essentielles sur les bactéries peut être attribuée à plusieurs facteurs comme le type des constituants chimiques de l'essence et leurs quantités, le type du microorganisme testé, la solubilité de l'huile ou non dans le milieu de culture, le facteur génétique de l'espèce végétale et son origine géographique et les

variations de la susceptibilité des souches bactérienne envers les huiles essentielles appliquées (**Hayouni et al.,2007 ; longaray Delamare et al :2007**)

Le potentiel antibactérien des huiles essentielles isolées de différentes espèces végétale à été largement étudié mais le mécanisme d'action des essences n'a pas été élucidé de façon détaillée. A cause du nombre élevé de composés chimique entrant dans la composition des huiles essentielles, l'activité antibactérienne ne peut pas être expliquée par un seul mode d'action mais il y a plusieurs mécanismes qui agissent au sein de la cellule bactérienne (**Brut,2004**).

III.2.2.1. Test d'antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme sont représentés dans la **figure15** et le **tableau 14** on remarque :

- Qu'*Escherichia coli* est résistante aux antibiotiques. On note que pour trois antibiotiques utilisés (GEN, AMX, AMP), deux ont été inefficaces (AMX, AMP) et le (GEN) a un effet antibactérien avec un diamètre d'inhibition de 22mm.
- *Staphylococcus aureus* est plus sensible que résistante aux antibiotiques. On note que pour trois antibiotiques utilisés (GEN, AMX, AMP), un seule antibiotique inefficace (AMX) et le (AMP ,GEN)on un effet antibactérien avec un diamètre d'inhibition de 15mm et 28m respectivement.
- *Pseudomonas aeruginosa* est résistante pour (AMP,AMX) et sensible aux (GEN) avec un diamètrede 23mm.
- Enfin pour *Proteus vulgaris* est sensible à la (GEN) avec un diamètrede 26mm, et résistante aux AMP etAMX.

D'après nos résultats on peut conclure que que *Staphylococcus aureus* est la plus sensible aux antibiotiques suivit de *Proteus vulgaris* puis *Pseudomonas aeruginosa* suivi d'*Escherichia coli* qui est la plus résistante .

Ces résultats sont en accord avec la littérature selon laquelle les bactéries Gram+ montrent la plus grande sensibilité par rapport aux bactéries à Gram-. Chez les bactéries à Gram-, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace ; le lipopolysaccharide, grâce à ses charges négatives de surface empêche la diffusion des molécules hydrophobes alors que les bactéries à Gram + sont moins protégés parce que la paroi est formée d'une couche de peptidoglycane seulement qui n'entrave que la diffusion des poids moléculaire à 50 KD.

La gentamicine agit en se liant à l'ARN ribosomiaux au site A du ribosome bactérien, qui est le site de décodage des codons de l'ARN messager. La fixation de la gentamicine augmente fortement le taux d'erreur de lecture par le ribosome, provoquant la synthèse de protéines anormales, dont l'accumulation est létale pour la cellule.

La gentamicine est un aminoglycoside 4,6-disubstitué, proche de la kanamycine. Elle porte en effet deux cycles glucosamine modifiés, branchés sur le motif central 2-désoxystreptamine. Les modifications sont des groupements méthyle, qui permet à la gentamicine d'échapper en partie aux mécanismes de résistance par modification de l'antibiotique. Pour cette raison, la gentamicine est encore très efficace en antibiothérapie chez l'homme, alors que la kanamycine qui n'est pas méthylée n'est pratiquement plus utilisée à cause de la perte d'efficacité due à ces résistances.

III.2.3. Etude de l'activité antifongique

III.2.3.1. Inhibition de la croissance radiale des moisissures

L'évaluation de l'activité par la méthode de dilution en milieu solide a révélé l'inhibition de croissance des filaments pour la plupart des souches testées. Cela est dû à l'empêchement de la germination des conidies par les composés volatils des huiles de *Salvia officinalis*, *Juniperus phoencea* et *Mentha pulguim*. La germination des conidies est la première étape essentielle dans la séquence d'opérations menant à l'établissement d'un tube germinatif et d'un hyphe. L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant. Ceci décompose la paroi cellulaire des conidies épaissie pour permettre l'apparition du tube digestif initial. Une fois que cet événement a lieu, il y a un équilibre entre les systèmes lytiques et synthétiques d'enzymes nécessaires pour la prolongation normale des hyphes. Un déséquilibre dans l'un ou l'autre système d'enzymes mène à l'inhibition et/ou à l'empêchement de croissance (McEwan, 1994). En définitive, les huiles essentielles *Salvia officinalis*, *Juniperus phoencea* et *Mentha pulguim* a eu des activités variables sur les souches fongiques testées.

Des études antérieures ont démontré la capacité de l'huile essentielle des différentes espèces à retarder et inhiber la croissance de diverses souches fongiques d'origine alimentaire y compris les espèces d'*Aspergillus* (Paster et al., 1995 ; Rahbar et al., 2012). Cette huile

S'est avéré plus active que celle du romarin, la sauge, le thym et le clou de girofle (**Baratta et al., 1998 ; Bouchra et al., 2003 ; Viuda-Martos et al., 2007**).

La difficulté de développer une molécule antifongique est liée, d'une part à l'ultrastructure de la cellule fongique qui présente trois barrières: la paroi cellulaire chitineuse, les ergostérols membranaires et le noyau eucaryote (**CHAMI, 2005**) et d'autre part, les molécules antifongiques elles-mêmes qui peuvent engendrer des résistances **PRASAD et KAPOOR,(2004)**.

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Juniperus phoenicea* et *Mentha pulguim* pourrait être attribué à la présence de composants antifongique classé dans la liste des constituants à activité antifongique de (**DUKE.,2009**) tels que: le myristicine, le curcumène, le caryophyllène, l'élémicine, le pinène, le terpinène et le terpinolène à différentes proportions.

III.2.3.2. La détermination des CMI

La détermination des CMI de l'huile essentielle sur les souches fongiques par méthode de dilution en milieu liquide confirme les résultats obtenus en milieu solide. Cette activité antifongique est due probablement au type et à la structure moléculaire des composants actifs présents dans l'HE. (**Oh et al., 1967; Griffin et al., 1998; Dorman et Deans, 2000; Cox et al., 2000**).

Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique (**Lahlou, 2004**). Les molécules réputées actives sont des terpénoïdes, car les hydrocarbures saturés et les acétates ioniques sont inactifs, par la nature même de leur faible capacité de liaisons hydrogène et de leur faible solubilité (**Griffin, 1999 ; Wyllie et al., 1999**).

Des composés chimiques qui ont une grande efficacité et à plus large spectre sont présents dans les huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Juniperus phoenicea* et *Mentha pulegium*, ce qui explique l'activité de cette dernière sur les champignons, phénols des alcools, des aldéhydes, des cétones (**Dorman et Deans, 2000**).

Chu et Kemper(2001) ont montré que le pouvoir antifongique est lié aux composants volatils d'huile : l' α pinène, β pinène, β cimène et 1,8 Cinéole. Ces composants majeurs des huiles essentielles est connu par son activité antifongique (**Svoboda et Hampsen, 1999**)



Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de *Salvia officinalis* et *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, vis-à-vis de souches bactériennes Gram positives et Gram négatives (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*) et des champignons (*Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus tamaris*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium*). Les densités des huiles essentielles : *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*, sont différents et sont de l'ordre de 0.9, 0.87, 0.91 respectivement.

Dans notre étude, une bonne activité antibactérienne des huiles essentielles de *Mentha* et *Juniperus* a été obtenue dont les zones d'inhibition varient entre 6mm et 24mm pour le *Mentha*, et entre 6mm et 15mm pour *Juniperus* comparé à celles obtenues par huile de *Salvia* qui varient entre 6mm et 14mm pour les mêmes concentrations vis-à-vis des bactéries cibles utilisées. Les huiles essentielles de *Mentha* et *Juniperus* ont montré un effet considérable par rapport à huile de *Salvia*.

L'activité antifongique des trois huiles essentielles a été suivie par la technique de dilution en milieu solide. L'huile essentielle de *Mentha* montre une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des champignons utilisés, par contre huile de *Salvia* présente une inhibition vis-à-vis des champignons utilisés sauf *A. tamaris*. et huile de *Juniperus* seulement envers *A. flavus*, *A. parasiticus*, *Penicillium*. Cette activité varie d'une souche à une autre et diffère selon les concentrations. La détermination des concentrations minimales inhibitrices, montre que nos huiles essentielles sont dotées d'une activité intéressante et pourrait donc être utilisées comme alternatives aux traitements antifongiques.

Toutefois, ces résultats restent préliminaires et afin de les approfondir, d'autres approches et études sont souhaitables à réaliser, il serait intéressant d'établir des synergies de différents composés de diverses plantes en plus d'étudier d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales et antiparasitaires.



Rappels bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdelli, W. (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris* . Thèse doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem

Adams. R. P. (2001). Identification of essential oil component by gas chromatography / Quadrupole mass spectroscopy American society for mass spectrometry 16:1902 -1903.

Adebayo C. O et Aderiye B. L., 2010. Antifungal activity of bacteriocins of lactic acid bacteria from some Nigerian fermented foods. Research Journal of Microbiology. 5, 1070-1082.

Alcamo E. I., 1984. Fundamentals of Microbiology.. Addison-Wesly publishing company, London .p:310-341; 617-699.

Amiot J., 2005 : Thymus vulgaris, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires. Thèse de Doctorat, Université Montpellier, ENSA. 77p.

Anonyme, 2015: (tpehuilesessentielles.blogspot.com)

AWOL M, BERHANU Y, ALEMNESH T and SOLOMON T (2016). In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oil of Thymus schimperi, Matricaria chamomilla, Eucalyptus globulus, and Rosmarinus officinalis International Journal of Microbiology Volume 2016 (2016), Article ID 9545693, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9545693>.

B

Beddo,F.,2015.Etude phytochimique et activités biologiques deux plantes médicinales sahariennes Rumex vesicarius L.et Anvillea radiata Coss &Dur,Biologie .Université Abou-Bekre –Belkaide Telemcen,p.143.

Références bibliographiques

Bellahouel , S.,2012. Etude du pouvoir antimicrobien et mycorhizien de deux espèce de terfez :tirmania pinoyi(Maire) Malenconet Terfezia leptoderma tul,Biotehnologie .Universirté d'oran,p.200.

Benayad N., 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences Rabat, Maroc.

Berche P, Gaillard J-L, Simonet M (1989) Bactériologie: bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences Flammarion.

Bhar H, Balouk A. Les plantes aromatiques et medecinales, Ces plantes odorantes qui soulagent la douleur. L'espace marocain 2011: 68(2), 20-7.

BILLERBECK V.G.D (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques.phytothérapies ,5(5) ,249-253.

B. Moulari. Propriétés antimicrobiennes in vitro d'extraits de deux plantes africaines – Rôle de l'Astilbine – potentialisation du pouvoir antibactérien par nanoencapsulation. Thèse de Doctorat Université Franche-Comté, France. (2005), 130p

BOUGROW. S., Reconnaître les champignons les plante et baies sauvages, E/P/A, 410 p, 2009.

BOUGUERRA. A., Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire, Mémoire de Magister.a l'université mentouri constantin ,2012.128p.

BOUKHATEM Mohamed Nadjib, HAMAIDI Mohand Said, SAIDI Fairouz et HAKIM Yahia, Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Article de l'Unité de recherche en Biotechnologies Végétales, Département de Biologie, Université Saad Dahleb de Blida, Algérie. (03). 2010.p. 37-45.

Bourrain J. L. Allergies aux huiles essentielles: aspects pratiques. Revue Française d'Allergologie 2013: 53, 30-2.

Références bibliographiques

Bourouda ,N.,2010.Place de l'antifongigramme dans la prise en charge des infections fongiques ,.Université Mohammed ,P.90.

BOUTEKEDJIRET C, BELABBES R, BENTAHAR F, BESSIÈRE J.M, et REZZOUG S.A (2004). Isolation of rosemary oils by different processes. J. Essent. Oil Res, Vol. 16, pp : 195–199.

Bouyahyaoui A. ,(2017). Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien .Thèse doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Bouzaid et al., 2016. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 10, N°1, p : 1-12*

L. F. BIYITI, D. J. L. MEKO'O, V. TAMZC and P. H. AMVAM ZOLLO, Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises, Trad. Pharmacol. Med. Afr, 13 (2004) 11 - 20.

Bouzidi,N.,2016.Etude des activités biologiques de l'huile essentiel de l'armoise blanche « Artemisia herba alba Asso» ,Biologie .Université Mustapha Stambouli de Mascara ,p.133.

BRUNETONJ., 2005 :.Pharmacognosie, Photochimie. Plantes médicinales. 3^eédition 2005.Edutions & Tec Doc médicales international.

BOUGROW. S., Reconnaître les champignons les plante et baies sauvages, E/P/A, 410 p, 2009.

C

CARBONNELLE B.,DENIS F., MARMONIER A., PINON G.and VARGUES R.,1987 :bactériologiemédicinale. TechniqueUsuelle p14, 133 et 416.

Chabrier Jean-Yves. (2010). MÉDICINALES ET FORMES D'UTILISATION EN PHYTOTHÉRAPIE.

CHAMI F., 2005. Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, p266.

Références bibliographiques

Chaouche, T.M., 2014. Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales, Biologie. Université Abou-Bekre –Belkaide Telemcen, p.119.

Chu C. J. & Kemper K. J., 2001. Lavender (*Lavandula spp.*). *Longwood Herbal Task Force*. P:32.

Coello M.S., 2007. Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium L.*) plants. *Flavour Frag. J.* **22**: 114-118.

COUIC-MANIER F, LOBSTEINA. 2013 - Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques N° 525, 22-25 pp.

COURVALLIN P., GOLDSTEIN F., PHILIPPON A. et SIROT., 1985 : L'antibiogramme. Paris, mpevideom.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R. & Wyllie S.G., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil). *Journal of Applied Microbiology* .88, p:170-175.

D

Deans S.G., 2002 .Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 5,p: 165–80.

Delille L., 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Editions, Alger. 240 p.

Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998;26:781-803; quiz 804-785
Latge JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:310-350.

Diaz-Maroto M.C., Castillo N., Castro-Vazquez L., Gonzalez-Vinas M.A. & Perez-Mansouri N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L., Guedira, A., et Aafi, A., (2010) .composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Juniperus communis* du Maroc. bulletin de la société royale des sciences de la région de la Gharb, Vol.80, 2011, p.791-805

Djerroumi A., Nacef, M. 2013 - 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed. Houma.

Références bibliographiques

Dorman .H .J .D and Deans. S. G. (2000).Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatils oils .Journal of Applied Microbiology ,88 :308 -316.

Duke J A., Bogenschutz-godwin du cellier M J., et Duke P A K., (2002). Medicinal Herbs. Edition CRC Press LLC.P:201.

E

EDRIS A (2007). « pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituent »,A Review –phytother .res ;vol.21 ;pp :308.323.

EL AJJOURI M, GHANMI M, SATRANI B, AMARTI F, RAHOUTI M, AAFI A, ISMAILI M R & FARAH A (2010).Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois, *Acta Botanica Gallica*, 157:2, 285-294.

ENEAV.,2004 : Epigallocatechin-Gallate Enhances the Activity of Tetracycline in Staphylococci by InhibitingIts Efflux fromBacterialCells. *Antimicrob Agents Chemother*, 48 (6), p 1968–1973.

Essawi, T., & Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* , 70, pp. 343-349.

F

F.A. Omonijo et al. / Animal Nutrition 4 (2018) 126-136.

F. Baba-Moussa. Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology* , 66 (1999) : 335-338.

Fouché J.G, A. Marquet, and A. Hambuckers,2000 : Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.

G

Gabriel I., Alleman F., Dufourcq V., Perrin F., Gabarrou J-F- 2013, INRA Productions Animales, 26 (1), 13-24.

Références bibliographiques

Garneau F.X. Le matériel végétal et les huiles essentielles (Laseve-UQAC, Chicoutimi ed.) 2005.

GHASEMI., PIRBALOUTI A., RAHIMI E.and MOOSAVI S. A.,2010 :Antimicrobialactivity ofessential oils of threeherbsagainst*Listeria monocytogenes* on chickenfrankfurters. *Acta agriculturaeSlovenica*, 95(3), p 219 – 223.

GIORDANI R, HADEF Y, KALOUSTIAN J (2008). Compositions and antifungal activities of essentialoils of some Algerian aromatic plants *Fitoterapia* 79 (2008) 199–203 www.elsevier.com/locate/fitote.

GOUTIER. J., L’herbier des jardins collection de plantes vivrières aromatiques médicinales et ornementales, La Maison Rustique Flammarion, 2009.

Griffin S. G.,1999.The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*.14 p :322-332.

Guignard, J.-L. and P. Potier,2000 : Biochimie végétale, 2ème ED, ed. T. 2. : Dunod.

H

HALLEL. Z., Contribution à l’étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes des *citrus* application sur la sardine (*sardina pilchardus*), mémoire de magister à l’université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou, 2011, 120p.

HANS. D., KOTHE.W., 1000 Plantes aromatiques et médicinales, Terres Edition, 2007.

I

INOUY S et ABE S (2007). « Nouvelle Approche De L’aromathérapie Anti –Infectieuse »-Phytothérapie. ; Vol.1 ; Pp2-4.

J

Jean-Michel, (2012) plantes médicinales et huiles essentielles : phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles.

Références bibliographiques

JUÁREZ Z.N, BACH H, SÁNCHEZ-ARREOLA E, BACH H, HERNÁNDEZ L.R (2016). Protective antifungal activity of essential oils extracted from *Buddleja perfoliata* and *Pelargonium graveolens* against fungi isolated from stored grains. *J Appl Microbiol.* 2016 May;120(5):1264-70. doi: 10.1111/jam.13092.

K

K. Batawila. Diversité, écologie et propriétés antifongiques des Combretaceae du Togo. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Reims, France (2002) 130p.

Khiati M (1998) Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.

Kordali S., Cakir A., Zengin H.& Duru M. E,2003. Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia.* 74 p: 164-167.

Kume H, Yamazaki T, Abe M, Tanuma H, Okudaira M, Okayasu I. Increase in aspergillosis and severe mycotic infection in patients with leukemia and MDS: comparison of the data from the Annual of the Pathological Autopsy Cases in Japan in 1989, 1993 and 1997. *Pathol Int* 2003;53:744-750.

KUNLE O, et OKOGUN J., (2003).Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippiamulti flora* leaf extract *Phytomedicine* .Vol 10.Pp:59-61.

L

Lahlou M., 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18, p: 435-448.

LAIB. I., Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs, Mémoire de Magister.a l'université mentouri constantin ,2011,122p

Lakhdar L. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* 2015.

Lamendin H. Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. In 2004.

Références bibliographiques

Latge JP. Aspergillus fumigatus and aspergillosis. Clin Microbiol Rev 1999;12:310-350

Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995) Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.

Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. Clin Infect Dis 2001;32:358-366

Luttge .U .K ; luge. M. Bauer .G(2002). Substances naturelles : botanique .3^{ème} Edition : Maloine SA.192 -196.

M

Madi A. 2010 - Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Research Master, Mentouri Constantine University, Constantine

McEwan M.,1994. The antifungal effects of plant essential oils and their production by transformed shoot culture. Dr thesis, Strathclyde Institute of Biomedical Sciences, University of Strathclyde, Glasgow, Scotland.

MEBARKI. N., Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application a la formation d'une forme médicamenteuse antibactérienne, Mémoire de magister à l'université Méhamed Bougara Boumerdes, 2010,185p.

MOHAMMEDI Z et ATIK F (2011), Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de Lavandula stoechas L. *Revue « Nature & Technologie »*. n° 06/Janvier 2012. Pages 34 à 39.

MORALES R (2002).The history, botany and taxonomy of the genus Thymus. In : Thyme : the Thymus. *Ed. Taylor & Francis, London.* pp. 1-43. évolutive des composés secondaires. *Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier.*

N

NAIT A.K (2012). Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de tiziouzou.Thèse de magistère en chimie appliquée, université Mouloud mameri; pp:13.

Références bibliographiques

Nedjmi, B., Beladel, B et Guit, B., (2015). multi-element determination in medicinal juniper tree (*Juniperus phoenicea*) by instrumental neutron activation analysis. *Journal of radiation research and applied sciences*, 8, 243-246 p.

O

Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2003). Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. Genève, Suisse, 96 p.

P

Pibiri M.C., 2006. Assainissement de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de doctorat. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, p. 28-52.

PONCEA.G., FRITZR., DEL VALLEC.andROURA S.I., 2003
:Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 36, p.679-684. *Journal of Clinical Microbiology* 36 : p2093-95.

POPOVIC A, ŠUCUR J, ORCIC D and ŠTRBAC P (2013). effects of essential oil formulations on the adult insect *tribolium castaneum* (herbst) (col., tenebrionidae) *Journal of central european agriculture*, 2013, 14(2), p.181-193 doi: 10.5513/jcea01/14.2.1246.

PRASAD R. and KAPOOR K., 2004. Multidrug resistance in yeast *Candida*. *Int. Rev. Cytol*, 242 : pp215-248.

Q

-

R

Rafi A, Tasneem U. S, Ashfaq A. The essential oils. *Hamdard Medicus* (Hamdard Medicus ed.) 1995

RAJGOVIND S, GAURAV S and NAKULESHWAR D.J (2016). Essential Oil Yield Pattern and Antibacterial and Insecticidal Activities of *Trachyspermum ammi* and *Myristica fragrans*. Volume 2016 (2016), Article ID 1428194, 7 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2016/1428194>.

Références bibliographiques

Rotimi V. O., Laughon B. E., Barlet J. S. & Mosadomi H. A. ,1988. Activities of Nigerian Chewing sticks extracts against *Bacterioides gingivalis* and *Bacterioides melaninogenicus*

S

Serrano M. A., Martí nez-Romero D., Guille ´n F., Valverde J. M., Zapata P. J., Castillo S et Valero D., 2008. The addition of essential oils to MAPas a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trends in Food Science & Technology*. 19, 464-471.

SUDANO., ROCCARO A., RITA BLANCO A., GIULIANO F., RUSCIANO D. and

TIM CUSHNIET. and ANDREW J., 2005 :Antimicrobial activity of flavonoids "Review". *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, p 343–356.

Suffredini, J. B., Sader, H. S., Goncalves, A. G., Reis, A. O., Gales, A. C., Varella, A. D., et al. (2004). Screening of antimicrobial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rainforest and Atlantic forest. *Brazil. J. Med. Biol. Res* , 37, pp. 379-384

Svoboda k.p. & Hampson J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Departement, SAC Auchincruive, Ayr ,Scotland, UK., KA6 5HW.

T

Teuscher E., Anton R., et Lobstein A., (2005). *Plantes Aromatiques (épices, aromates, condiments et huiles essentielles)*. Edition Tec et Doc. Paris. Edition. E.M. inter. Allemagne. P : 266.

U

-

V

-

W

Références bibliographiques

Walker, J. B., Kenneth, J., Treutlein, J., & Wink, M. 2004 - *Salvia* (lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systmatics, radiation, and ecological pecializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany* , 91 (7), pp. 1115–1125.

Wolters kluwer, (2007). botanique pharmacognosie phytothérapie.1, rus Eugène et Armand Peugeot.92500 Rueil-Malmaison Cedex

Wyllie G., Markham J. L. & Leach D. N., 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Talanta* .14,p: 322-332.

X

-

Y

-

Z

-

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdelli, W. (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris* . Thèse doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem

Adams. R. P. (2001). Identification of essential oil component by gas chromatography / Quadrupole mass spectroscopy American society for mass spectrometry 16:1902 -1903.

Adebayo C. O et Aderiye B. L., 2010. Antifungal activity of bacteriocins of lactic acid bacteria from some Nigerian fermented foods. Research Journal of Microbiology. 5, 1070-1082.

Alcamo E. I., 1984. Fundamentals of Microbiology.. Addison-Wesly publishing company, London .p:310-341; 617-699.

Amiot J., 2005 : Thymus vulgaris, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires. Thèse de Doctorat, Université Montpellier, ENSA. 77p.

Anonyme, 2015: (tpehuilesessentielles.blogspot.com)

AWOL M, BERHANU Y, ALEMNESH T and SOLOMON T (2016). In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oil of Thymus schimperi, Matricaria chamomilla, Eucalyptus globulus, and Rosmarinus officinalis International Journal of Microbiology Volume 2016 (2016), Article ID 9545693, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9545693>.

B

Beddo,F.,2015.Etude phytochimique et activités biologiques deux plantes médicinales sahariennes Rumex vesicarius L.et Anvillea radiata Coss &Dur,Biologie .Université Abou-Bekre –Belkaide Telemcen,p.143.

Références bibliographiques

Bellahouel , S.,2012. Etude du pouvoir antimicrobien et mycorhizien de deux espèce de terfez :tirmania pinoyi(Maire) Malenconet Terfezia leptoderma tul,Biotehnologie .Universirté d'oran,p.200.

Benayad N., 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences Rabat, Maroc.

Berche P, Gaillard J-L, Simonet M (1989) Bactériologie: bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences Flammarion.

Bhar H, Balouk A. Les plantes aromatiques et medecinales, Ces plantes odorantes qui soulagent la douleur. L'espace marocain 2011: 68(2), 20-7.

BILLERBECK V.G.D (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques.phytothérapies ,5(5) ,249-253.

B. Moulari. Propriétés antimicrobiennes in vitro d'extraits de deux plantes africaines – Rôle de l'Astilbine – potentialisation du pouvoir antibactérien par nanoencapsulation. Thèse de Doctorat Université Franche-Comté, France. (2005), 130p

BOUGROW. S., Reconnaître les champignons les plante et baies sauvages, E/P/A, 410 p, 2009.

BOUGUERRA. A., Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire, Mémoire de Magister.a l'université mentouri constantin ,2012.128p.

BOUKHATEM Mohamed Nadjib, HAMAIDI Mohand Said, SAIDI Fairouz et HAKIM Yahia, Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Article de l'Unité de recherche en Biotechnologies Végétales, Département de Biologie, Université Saad Dahleb de Blida, Algérie. (03). 2010.p. 37-45.

Bourrain J. L. Allergies aux huiles essentielles: aspects pratiques. Revue Française d'Allergologie 2013: 53, 30-2.

Références bibliographiques

Bourouda ,N.,2010.Place de l'antifongigramme dans la prise en charge des infections fongiques ,.Université Mohammed ,P.90.

BOUTEKEDJIRET C, BELABBES R, BENTAHAR F, BESSIÈRE J.M, et REZZOUG S.A (2004). Isolation of rosemary oils by different processes. J. Essent. Oil Res, Vol. 16, pp : 195–199.

Bouyahyaoui A. ,(2017). Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien .Thèse doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Bouzaid et al., 2016. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 10, N°1, p : 1-12*

L. F. BIYITI, D. J. L. MEKO'O, V. TAMZC and P. H. AMVAM ZOLLO, Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises, Trad. Pharmacol. Med. Afr, 13 (2004) 11 - 20.

Bouzidi,N.,2016.Etude des activités biologiques de l'huile essentiel de l'armoise blanche « Artemisia herba alba Asso» ,Biologie .Université Mustapha Stambouli de Mascara ,p.133.

BRUNETONJ., 2005 :.Pharmacognosie, Photochimie. Plantes médicinales. 3^eédition 2005.Edutions & Tec Doc médicales international.

BOUGROW. S., Reconnaître les champignons les plante et baies sauvages, E/P/A, 410 p, 2009.

C

CARBONNELLE B.,DENIS F., MARMONIER A., PINON G.and VARGUES R.,1987 :bactériologiemédicinale. TechniqueUsuelle p14, 133 et 416.

Chabrier Jean-Yves. (2010). MÉDICINALES ET FORMES D'UTILISATION EN PHYTOTHÉRAPIE.

CHAMI F., 2005. Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, p266.

Références bibliographiques

Chaouche, T.M., 2014. Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales, Biologie. Université Abou-Bekre –Belkaide Telemcen, p.119.

Chu C. J. & Kemper K. J., 2001. Lavender (*Lavandula spp.*). *Longwood Herbal Task Force*. P:32.

Coello M.S., 2007. Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium L.*) plants. *Flavour Frag. J.* **22**: 114-118.

COUIC-MANIER F, LOBSTEINA. 2013 - Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques N° 525, 22-25 pp.

COURVALLIN P., GOLDSTEIN F., PHILIPPON A. et SIROT., 1985 : L'antibiogramme. Paris, mpevideom.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R. & Wyllie S.G., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil). *Journal of Applied Microbiology* .88, p:170-175.

D

Deans S.G., 2002 .Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 5,p: 165–80.

Delille L., 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Editions, Alger. 240 p.

Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998;26:781-803; quiz 804-785
Latge JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:310-350.

Diaz-Maroto M.C., Castillo N., Castro-Vazquez L., Gonzalez-Vinas M.A. & Perez-Mansouri N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L., Guedira, A., et Aafi, A., (2010) .composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Juniperus communis* du Maroc. bulletin de la société royale des sciences de la région de la Gharb, Vol.80, 2011, p.791-805

Djerroumi A., Nacef, M. 2013 - 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed. Houma.

Références bibliographiques

Dorman .H .J .D and Deans. S. G. (2000).Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatils oils .Journal of Applied Microbiology ,88 :308 -316.

Duke J A., Bogenschutz-godwin du cellier M J., et Duke P A K., (2002). Medicinal Herbs. Edition CRC Press LLC.P:201.

E

EDRIS A (2007). « pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituent »,A Review –phytother .res ;vol.21 ;pp :308.323.

EL AJJOURI M, GHANMI M, SATRANI B, AMARTI F, RAHOUTI M, AAFI A, ISMAILI M R & FARAH A (2010).Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois, *Acta Botanica Gallica*, 157:2, 285-294.

ENEAV.,2004 : Epigallocatechin-Gallate Enhances the Activity of Tetracycline in Staphylococci by InhibitingIts Efflux fromBacterialCells. *Antimicrob Agents Chemother*, 48 (6), p 1968–1973.

Essawi, T., & Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* , 70, pp. 343-349.

F

F.A. Omonijo et al. / Animal Nutrition 4 (2018) 126-136.

F. Baba-Moussa. Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology* , 66 (1999) : 335-338.

Fouché J.G, A. Marquet, and A. Hambuckers,2000 : Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.

G

Gabriel I., Alleman F., Dufourcq V., Perrin F., Gabarrou J-F- 2013, INRA Productions Animales, 26 (1), 13-24.

Références bibliographiques

Garneau F.X. Le matériel végétal et les huiles essentielles (Laseve-UQAC, Chicoutimi ed.) 2005.

GHASEMI., PIRBALOUTI A., RAHIMI E.and MOOSAVI S. A.,2010 :Antimicrobialactivity ofessential oils of threeherbsagainst*Listeria monocytogenes* on chickenfrankfurters. *Acta agriculturaeSlovenica*, 95(3), p 219 – 223.

GIORDANI R, HADEF Y, KALOUSTIAN J (2008). Compositions and antifungal activities of essentialoils of some Algerian aromatic plants *Fitoterapia* 79 (2008) 199–203 www.elsevier.com/locate/fitote.

GOUTIER. J., L’herbier des jardins collection de plantes vivrières aromatiques médicinales et ornementales, La Maison Rustique Flammarion, 2009.

Griffin S. G.,1999.The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*.14 p :322-332.

Guignard, J.-L. and P. Potier,2000 : Biochimie végétale, 2ème ED, ed. T. 2. : Dunod.

H

HALLEL. Z., Contribution à l’étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes des *citrus* application sur la sardine (*sardina pilchardus*), mémoire de magister a l’université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou, 2011, 120p.

HANS. D., KOTHE.W., 1000 Plantes aromatiques et médicinales, Terres Edition, 2007.

I

INOUY S et ABE S (2007). « Nouvelle Approche De L’aromathérapie Anti –Infectieuse »-Phytothérapie. ; Vol.1 ; Pp2-4.

J

Jean-Michel, (2012) plantes médicinales et huiles essentielles : phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles.

Références bibliographiques

JUÁREZ Z.N, BACH H, SÁNCHEZ-ARREOLA E, BACH H, HERNÁNDEZ L.R (2016). Protective antifungal activity of essential oils extracted from *Buddleja perfoliata* and *Pelargonium graveolens* against fungi isolated from stored grains. *J Appl Microbiol.* 2016 May;120(5):1264-70. doi: 10.1111/jam.13092.

K

K. Batawila. Diversité, écologie et propriétés antifongiques des Combretaceae du Togo. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Reims, France (2002) 130p.

Khiati M (1998) Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.

Kordali S., Cakir A., Zengin H.& Duru M. E,2003. Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia.* 74 p: 164-167.

Kume H, Yamazaki T, Abe M, Tanuma H, Okudaira M, Okayasu I. Increase in aspergillosis and severe mycotic infection in patients with leukemia and MDS: comparison of the data from the Annual of the Pathological Autopsy Cases in Japan in 1989, 1993 and 1997. *Pathol Int* 2003;53:744-750.

KUNLE O, et OKOGUN J., (2003).Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippiamulti flora* leaf extract *Phytomedicine* .Vol 10.Pp:59-61.

L

Lahlou M., 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18, p: 435-448.

LAIB. I., Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs, Mémoire de Magister.a l'université mentouri constantin ,2011,122p

Lakhdar L. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* 2015.

Lamendin H. Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. In 2004.

Références bibliographiques

Latge JP. Aspergillus fumigatus and aspergillosis. Clin Microbiol Rev 1999;12:310-350

Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995) Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.

Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Aspergillosis case-fatality rate: systematic review of the literature. Clin Infect Dis 2001;32:358-366

Luttge .U .K ; luge. M. Bauer .G(2002). Substances naturelles : botanique .3^{ème} Edition : Maloine SA.192 -196.

M

Madi A. 2010 - Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Research Master, Mentouri Constantine University, Constantine

McEwan M.,1994. The antifungal effects of plant essential oils and their production by transformed shoot culture. Dr thesis, Strathclyde Institute of Biomedical Sciences, University of Strathclyde, Glasgow, Scotland.

MEBARKI. N., Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application a la formation d'une forme médicamenteuse antibactérienne, Mémoire de magister à l'université Méhamed Bougara Boumerdes, 2010,185p.

MOHAMMEDI Z et ATIK F (2011), Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de Lavandula stoechas L. *Revue « Nature & Technologie ».* n° 06/Janvier 2012. Pages 34 à 39.

MORALES R (2002).The history, botany and taxonomy of the genus Thymus. In : Thyme : the Thymus. *Ed. Taylor & Francis, London.* pp. 1-43. évolutive des composés secondaires. *Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier.*

N

NAIT A.K (2012). Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de tiziouzou. Thèse de magistère en chimie appliquée, université Mouloud mameri; pp:13.

Références bibliographiques

Nedjmi, B., Beladel, B et Guit, B., (2015). multi-element determination in medicinal juniper tree (*Juniperus phoenicea*) by instrumental neutron activation analysis. *Journal of radiation research and applied sciences*, 8, 243-246 p.

O

Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2003). Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. Genève, Suisse, 96 p.

P

Pibiri M.C., 2006. Assainissement de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de doctorat. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, p. 28-52.

PONCEA.G., FRITZR., DEL VALLEC.andROURA S.I., 2003
:Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 36, p.679-684. *Journal of Clinical Microbiology* 36 : p2093-95.

POPOVIC A, ŠUCUR J, ORCIC D and ŠTRBAC P (2013). effects of essential oil formulations on the adult insect *tribolium castaneum* (herbst) (col., tenebrionidae) *Journal of central european agriculture*, 2013, 14(2), p.181-193 doi: 10.5513/jcea01/14.2.1246.

PRASAD R. and KAPOOR K., 2004. Multidrug resistance in yeast *Candida*. *Int. Rev. Cytol*, 242 : pp215-248.

Q

-

R

Rafi A, Tasneem U. S, Ashfaq A. The essential oils. *Hamdard Medicus* (Hamdard Medicus ed.) 1995

RAJGOVIND S, GAURAV S and NAKULESHWAR D.J (2016). Essential Oil Yield Pattern and Antibacterial and Insecticidal Activities of *Trachyspermum ammi* and *Myristica fragrans*. Volume 2016 (2016), Article ID 1428194, 7 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2016/1428194>.

Références bibliographiques

Rotimi V. O., Laughon B. E., Barlet J. S. & Mosadomi H. A. ,1988. Activities of Nigerian Chewing sticks extracts against *Bacterioides gingivalis* and *Bacterioides melaninogenicus*

S

Serrano M. A., Martí nez-Romero D., Guille ´n F., Valverde J. M., Zapata P. J., Castillo S et Valero D., 2008. The addition of essential oils to MAPas a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trends in Food Science & Technology*. 19, 464-471.

SUDANO., ROCCARO A., RITA BLANCO A., GIULIANO F., RUSCIANO D. and

TIM CUSHNIET. and ANDREW J., 2005 :Antimicrobial activity of flavonoids "Review". *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, p 343–356.

Suffredini, J. B., Sader, H. S., Goncalves, A. G., Reis, A. O., Gales, A. C., Varella, A. D., et al. (2004). Screening of antimicrobial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rainforest and Atlantic forest. *Brazil. J. Med. Biol. Res* , 37, pp. 379-384

Svoboda k.p. & Hampson J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Departement, SAC Auchincruive, Ayr ,Scotland, UK., KA6 5HW.

T

Teuscher E., Anton R., et Lobstein A., (2005). *Plantes Aromatiques (épices, aromates, condiments et huiles essentielles)*. Edition Tec et Doc. Paris. Edition. E.M. inter. Allemagne. P : 266.

U

-

V

-

W

Références bibliographiques

Walker, J. B., Kenneth, J., Treutlein, J., & Wink, M. 2004 - *Salvia* (lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systmatics, radiation, and ecological pecializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany* , 91 (7), pp. 1115–1125.

Wolters kluwer, (2007). botanique pharmacognosie phytothérapie.1, rus Eugène et Armand Peugeot.92500 Rueil-Malmaison Cedex

Wyllie G., Markham J. L. & Leach D. N., 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Talanta* .14,p: 322-332.

X

-

Y

-

Z

-



Annexe

Annexe

Annexe

1. Protocol de préparation de milieux gélose dextrosée à la pomme de terre(PDA) .

1.1 Constituants :

- 200 g de Pomme de terre ;
- 15 g de Dextrose ou de sucre blanc de cannes
- 20 g d'agar - agar
- 1 litre d'eau distillée.

1.2 Préparations :

- Dissoudre 20g d'agar-agar dans 300 ml d'eau distillée, homogénéiser la solution.
- Peser 200g de pomme de terre, éplucher la pomme de terre, mélanger 200g de pomme de terre bien découpé avec 300 ml d'eau distillée,

Bouillir à 100° C pendant 20 à 25 minutes, ensuite recueillir l'eau de la pomme de terre environ 300 ml.

- Le 300 ml de l'eau venant de la pomme de terre est mélangé à 300 ml de la solution agar - agar.
- Ajuster ensuite le volume du mélange au moyen de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml.
- Auto - claver le mélange à la température de 125° C, la pression de 1,4 bar pendant 15 minutes.

2 .Protocol de préparation de milieux Mueller Hinton (MH)

2. 1 .Composition

- Peptone de caséine 17.5g
- Amidon de maïs 1.5g
- Agar 17.0g
- PH 7.4

Annexe

2. 2. Préparation

- Peser 38.0g de poudre et la mélanger dans 1litre d'eau autoclavé.
- Homogénéiser puis Chauffer en agitant et Porter à l'ébullition pendant 1 minute.
- Stériliser la gélose a l'autoclave pendant 15 minutes à 116°C.

Annexe

3. Verrerie et Appareillage



E)



)



art)



RAL)

Annexe



)



IZEN)



LAVE^R)



EX2)

Annexe

4. systématique des bactéries

<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
Règne	Bacteria	Règne	Bacteria
Division	Fermicute	Division	Proteobacteria
Classe	Bacilli	Classe	Gamma Prpteobacteria
Ordre	Bacillales	Ordre	Enterobacteriales
Famille	Staphylococcaceae	Famille	Enterobacteriaceae
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>	Espèce	<i>Escherichia coli</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Proteus vulgaris</i>	
Règne	Bacteria	Règne	Bacteria
Division	Proteobacteria	Division	Proteobacteria
Classe	Gamma proteobacteria	Classe	Gamma proteobacteria`
Ordre	Pseudomonadales	Ordre	Enterobacteriales
Famille	Pseudomonadaceae	Famille	Enterobacteriaceae
Espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Espèce	<i>Proteus vulgaris</i>

Annexe

5. les étapes de coloration de Gram

5.1. Coloration par le violet de gentiane :

- Placer le frottis fixé dans le flacon de violet de gentiane.
- Laisser agir 1min.

5.2. Mordançage par lugol :

- Recouvrir le frottis (placé sur le porte-lame, au dessus de la cuve à coloration) de lugol.
- Laisser agir 1 min(ou un temps au moins égal à celui de l'action du violet de gentiane).
- Eliminer l'excès de lugol et rincer la lame à l'eau distillée.

5.3. Décoloration par l'alcool :

- ❖ Recouvrir le frottis d'alcool (éthanol) et laisser agir 10s.
- ❖ Laver le frottis à l'eau distillée (les 2cotés de la lame).

5.4. Recoloration par la fushine :

- ❖ Placer le frottis dans le flacon de fushine.
- ❖ Laisser agir 10s.
- ❖ Sortir la lame et la rincer à l'eau distillée (des 2 cotés).

5.5. Séchage :

- ❖ Sécher la lame entre 2 feuilles de papier essuie-tout.

Annexe

Annexe

1. Protocol de préparation de milieux gélose dextrosée à la pomme de terre(PDA) .

1.1 Constituants :

- 200 g de Pomme de terre ;
- 15 g de Dextrose ou de sucre blanc de cannes
- 20 g d'agar - agar
- 1 litre d'eau distillée.

1.2 Préparations :

- Dissoudre 20g d'agar-agar dans 300 ml d'eau distillée, homogénéiser la solution.
- Peser 200g de pomme de terre, éplucher la pomme de terre, mélanger 200g de pomme de terre bien découpé avec 300 ml d'eau distillée,

Bouillir à 100° C pendant 20 à 25 minutes, ensuite recueillir l'eau de la pomme de terre environ 300 ml.

- Le 300 ml de l'eau venant de la pomme de terre est mélangé à 300 ml de la solution agar - agar.
- Ajuster ensuite le volume du mélange au moyen de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml.
- Auto - claver le mélange à la température de 125° C, la pression de 1,4 bar pendant 15 minutes.

2 .Protocol de préparation de milieux Mueller Hinton (MH)

2. 1 .Composition

- Peptone de caséine 17.5g
- Amidon de maïs 1.5g
- Agar 17.0g
- PH 7.4

Annexe

2. 2. Préparation

- Peser 38.0g de poudre et la mélanger dans 1 litre d'eau autoclavé.
- Homogénéiser puis Chauffer en agitant et Porter à l'ébullition pendant 1 minute.
- Stériliser la gélose a l'autoclave pendant 15 minutes à 116°C.

Annexe

3. Verrerie et Appareillage



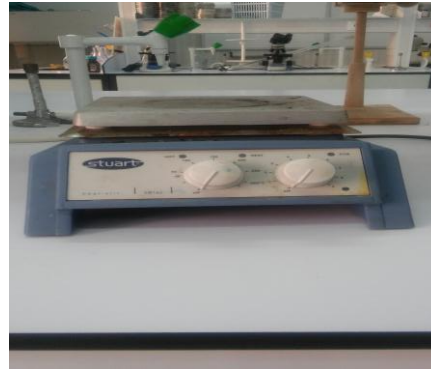
Balance (Scout™ SE)



Etuve



Etuve (Venticell)



Plaque chauffante (Stuart)



Microscope

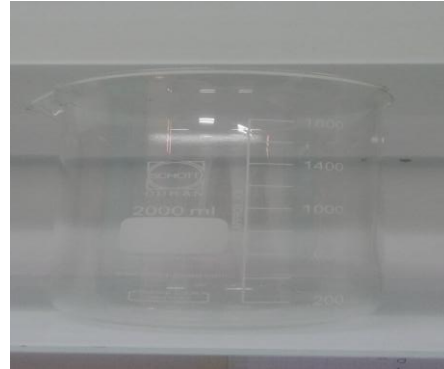


Bec benzène (NATURAL)

Annexe



Micropipette



Becher (SCHOTT)



Pipette pasteur



Spectrophotomètres (OPTIZEN)



AUTOCLAVE (WISECLAVE^R)



VORTEX (IKA^R VORTEX2)

Annexe

4. systématique des bactéries

<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
Règne	Bacteria	Règne	Bacteria
Division	Fermicute	Division	Proteobacteria
Classe	Bacilli	Classe	Gamma Prpteobacteria
Ordre	Bacillales	Ordre	Enterobacteriales
Famille	Staphylococcaceae	Famille	Enterobacteriaceae
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>	Espèce	<i>Escherichia coli</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Proteus vulgaris</i>	
Règne	Bacteria	Règne	Bacteria
Division	Proteobacteria	Division	Proteobacteria
Classe	Gamma proteobacteria	Classe	Gamma proteobacteria`
Ordre	Pseudomonadales	Ordre	Enterobacteriales
Famille	Pseudomonadaceae	Famille	Enterobacteriaceae
Espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Espèce	<i>Proteus vulgaris</i>

Annexe

5. les étapes de coloration de Gram

5.1. Coloration par le violet de gentiane :

- Placer le frottis fixé dans le flacon de violet de gentiane.
- Laisser agir 1min.

5.2. Mordançage par lugol :

- Recouvrir le frottis (placé sur le porte-lame, au dessus de la cuve à coloration) de lugol.
- Laisser agir 1 min(ou un temps au moins égal à celui de l'action du violet de gentiane).
- Eliminer l'excès de lugol et rincer la lame à l'eau distillée.

5.3. Décoloration par l'alcool :

- ❖ Recouvrir le frottis d'alcool (éthanol) et laisser agir 10s.
- ❖ Laver le frottis à l'eau distillée (les 2cotés de la lame).

5.4. Recoloration par la fushine :

- ❖ Placer le frottis dans le flacon de fushine.
- ❖ Laisser agir 10s.
- ❖ Sortir la lame et la rincer à l'eau distillée (des 2 cotés).

5.5. Séchage :

- ❖ Sécher la lame entre 2 feuilles de papier essuie-tout.

Résumé

Notre étude a pour objectif de déterminer l'activité antibactérienne et antifongiques des huiles essentielle de *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* sur des souches bactériennes et fongiques pathogènes. Dans cette étude, nous avons procédé sur étude analytique des caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles ainsi que l'évaluation de leur pouvoir antibactérien et antifongique. Les densités des huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* sont différents et sont de l'ordre de 0.9, 0.87, 0.91 respectivement. Les résultats des activités antibactériennes ont montré que les huiles essentielles de *Mentha* et *Juniperus* présentent une bonne activité inhibitrice par rapport à l'huile de *Salvia*. L'activité antifongique nous a révélé que l'huile essentielle de *Mentha* présente une activité importante envers les champignons étudiés comparée avec *Salvia* et *Juniperus* qui sont faiblement actifs. D'après les résultats obtenus, on note que la *Menthe* présenté une meilleure activité antimicrobienne.

Mots-clés : huiles essentielles, activité antibactérienne, activité antifongique, *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*

Summary

Our study aims to determine the antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* and *Juniperus phoenicea* on bacterial and fungal pathogenic strains. In this study, we proceeded on analytical study and physicochemical characteristics of essential oils as well as the evaluation of their antibacterial and antifungal activity. The densities of the essential oils of *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* and *Juniperus phoenicea* are different and are of the order of 0.9, 0.87, 0.91 respectively. The results of the antibacterial activities have shown that the essential oils of *Mentha* and *Juniperus* have a good inhibitory activity compared to *Salvia* oil. The antifungal activity revealed that *Mentha* essential oil shows a significant activity towards the studied fungi compared with *Salvia* and *Juniperus* which are weakly active. From the results obtained, it is noted that mint exhibited a better antimicrobial activity.

Keywords: essential oils, antibacterial activity, antifungal activity, *Salvia officinalis*, *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*

ملخص

تهدف دراستنا إلى تحديد نشاط مضاد للجراثيم والفطريات للزيوت العطرية من *Salvia officinalis*، *Mentha pulegium* و *Juniperus phoenicea* للسلاسل المسببة للأمراض البكتيرية والفطرية، في هذه الدراسة، تابعنا دراسة تحليلية وخصائص فيزيائية وكيميائية للزيوت الأساسية وكذلك تقييم قوتها المضادة للبكتيريا والفطريات، وكثافة الزيوت الأساسية: إن *Salvia officinalis* و *Mentha pulegium* و *Juniperus phoenicea* مختلفتان وترتيباً من 0.9، 0.87، 0.91 على التوالي. أظهرت نتائج الأنشطة المضادة للبكتيريا ذلك الزيوت الأساسية من *Mentha* و *Juniperus* لها نشاط مثبط جيد من قبل مقارنة مع زيت سالفيا. كشف النشاط المضاد للفطريات لنا أن الزيت العطري لدى *Mentha* نشاط مهم تجاه الفطريات التي تمت

دراسرتها مقارنةً سالفها و Juniperus التي تنشط ضعيفة. وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها، نلاحظ ذلك عرضت النعناع أفضل نشاط مضادات الميكروبات.

الكلمات المفتاحية: زيوت أساسية ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للفطريات ،