

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département Sciences de la Nature et de la vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Infectiologie

Présenté par

KADOUM Abdelkader

SAADEDINE Khadîdja

KADA Rachida

Thème

**Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois huiles essentielles du *Thymus fontanessii*, *Eucalyptus sp.* et *Lavandula sp.* vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* isolés à partir des cas de mammite bovine**

Soutenu publiquement le 30/06/2019

**Jury**

**Président :** Mme TABAK Souhila

**Encadreur :** Mr BENBELKACEM Idir

**Examineur :** Mr SELLES Ammar Sidi Mohamed

**Grade**

MCA

MAA

MCB

Année universitaire 2018/2019

# Sommaire

Liste des figures	i
Liste des tableaux	ii
Liste des abréviations	iii
Introduction générale	
<b>Chapitre I généralités sur la mammite bovine</b>	
I.1 Mammite subclinique.....	3
I.2 Mammite chronique.....	3
I.3 Mammite à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	4
<b>Chapitre II généralités sur les huiles essentielles</b>	
II.1 Définition.....	5
II.2 Localisation des huiles essentielles.....	5
II.3 Rôle des huiles essentielles.....	6
II.4 Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles.....	6
II.5 Activité des huiles essentielles.....	6
II.5.1 Activité antibactérienne.....	6
II.5.1 Activité antioxydante.....	6
II.5.1 Activité antifongique.....	7
II.6 Toxicité des huiles essentielles.....	7
<b>Chapitre III Généralités sur les trois plantes utilisées</b>	
III.1 <i>Thymus fontanesii</i> .....	8
III.1.1 Historique.....	8
III.1.2 Description du <i>Thymus fontanesii</i> .....	9
III.1.3 Répartition géographique de la plante.....	9
III.1.4 Taxonomie.....	9
III.1.5 Huile essentielle du <i>Thymus</i> .....	10
III.1.6 Propriétés pharmacologiques.....	10
III.1.6.1 Effets antioxydants.....	10
III.1.6.2 Effets antimicrobiens.....	11
III.2 <i>Eucalyptus sp.</i> .....	11
III.2.1 Historique.....	11
III.2.2 Description de la plante.....	12
III.2.3 Répartition géographique de l' <i>Eucalyptus</i> .....	13
III.2.4 Taxonomie.....	14
III.2.5 Propriétés de l' <i>Eucalyptus</i> .....	15

III.3 Lavandula sp.....	15
III.3.1 Historique.....	15
III.3.2 Description de la lavande.....	16
III.3.3 Répartition géographique de la plante.....	17
III.3.4 Taxonomie.....	17
III.3.5 Propriétés de la lavande.....	17

#### Chapitre IV généralités sur les *Staphylococcus aureus*

IV.1 Historique.....	19
IV.2 Présentation du germe.....	19
IV.3 Pouvoir pathogène.....	20
IV.4 Résistance à la pénicilline.....	20
IV.5 Importance des <i>Staphylococcus aureus</i> dans la mammite bovine.....	20

#### Chapitre I Matériel et méthodes

V.1 Objectif de travail.....	21
V.2 Lieu et période d'étude.....	21
V.3 Matériel et produits.....	21
V.3.1 Matériel biologique.....	21
V.3.2 Matériel de laboratoire.....	22
V.4 Méthodes.....	22
V.4.1 Protocole expérimental.....	22
V.4.2 Extraction des huiles essentielles.....	23
V.4.3 Détermination du rendement d'extraction.....	24
V.4.4 Conservation de l'huile essentielle obtenue.....	25
V.4.5 Prélèvements du lait mammiteux.....	25
V.4.6 Analyse et identification du lait mammiteux.....	26
V.4.7 Purification et identification des souches bactériennes.....	28
V.5 Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	29
V.5.1 Antibiogramme.....	29
V.5.2 Aromatogramme.....	29
V.5.3 Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	29

#### Chapitre VI résultats et discussion

VI.1 Rendement d'extraction des huiles essentielles.....	31
VI.2 Identification des souches bactériennes.....	32
VI.3 Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	32

<b>VI.3.1 Antibiogramme.....</b>	<b>32</b>
<b>VI.3.2 Aromatogramme.....</b>	<b>33</b>
<b>VI.3.3 Détermination des concentrations minimales inhibitrices des huiles essentiels.....</b>	<b>34</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>36</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>37</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des figures

Figure 1. <i>Thymus fontanesii</i> (photographie) (www.tela-botanica.org).....	8
Figure 2. Photographie personnel de la tige du fruit et de la feuille d' <i>Eucalyptus sp</i> .....	13
Figure 3. Fruit d' <i>E.globulus</i> (Photographie). (www.tela-botanica.org).....	14
Figure 4. Fruit d' <i>E.camaldulensis</i> (Photographie). (www.tela-botanica.org).....	14
Figure 5. Fruit d' <i>E.citriodora</i> (Photographie). (www.tela-botanice.org).....	14
Figure 6. Planche de <i>lavandula sp.</i> (Anonyme 2009).....	17
Figure 7. Dispositif d'hydrodistillation utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.....	24
Figure 8. Rendement d'extraction des huiles essentielles.....	31
Figure 9. Résultats de l'activité antibactériennes des trois huiles vis-à-vis les souches de <i>S.aureus</i> .....	33

## Liste des tableaux

Tableau 1. Verreries et appareillage.....	22
Tableau 2. Résultats des tests d'identification des souches bactériennes.....	32
Tableau 3. Résultats de l'antibiogramme vis-à-vis les souches de <i>S.aureus</i> .....	32
Tableau 4. Valeurs des CMI de <i>Thymus fontanesii</i> et d' <i>Eucalyptus sp.</i> vis-à-vis de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34

## Liste des annexes

- Annexe 1. Appareillage du laboratoire.
- Annexe 2. Résultats des tests d'identification.
- Annexe 3. Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne.
- Annexe 4. Résultats de microdilution

## Liste des abréviations

**ATCC:** American type culture collection

**CMT:** California Mastitis Test

**CMI:** Concentration Minimale d'inhibition

**DZI:** Diamètre des zones d'inhibition

**HE:** Huile essentielle

**MH:** Muller Hinton

**BHIB:** Brain Heart Infusion Broth

## **REMERCIEMENTS**

*Louange à Allah, nous Le glorifions, Lui demandons aide et invoquons Son pardon contre le mal de nos péchés, celui qui fut guidé personne ne peut l'égarer et celui qui est égaré personne ne peut le guider. Je témoigne qu'il n'y a point de divinité digne d'adoration sauf Allah, l'Unique, qui n'a point d'associé et je témoigne aussi que Muhammed est Son Serviteur et Son Messager, que la bénédiction d'Allah soit sur Lui, sa famille, ses compagnons, et tous ceux qui le suivent sur le droit chemin jusqu'au Jour Dernier. Ensuite...*

*Nous tenons à exprimer nos sincères gratitudee à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements vont en premier lieu à notre encadrant :*

*- Mr BENBELCKACEM Idir, Enseignant à L'institut des Sciences Vétérinaire de l'Université de Tiaret, pour nous avoir dirigé, conseillé, encouragé, et nous accueilli ainsi pour sa bonne volonté, sa patience et ses précieux conseils qu'il nous a prodigués tout au long de ce travail.*

*- Mr SELESS Mohamed Ammar, Docteur à L'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université de Tiaret, qui nous a soutenu dans les bons moments, comme dans les périodes de découragement, de nous avoir accueilli dans le laboratoire de Pharmacologie de l'Institut..*

*Nous exprimons nos plus sincères remerciements aux membres de jury qu'ils ont accepté la lourde tâche de lire l'intégralité de ce manuscrit et de participer au jury de notre soutenance. Aussi on leur est reconnaissant de nous avoir accordé de leurs temps.*

*Nous ne saurons jamais assez remercier toute nos familles, en particulier nos parents pour les sacrifices et l'amour qu'ils ont témoigné à mon égard.*

*Je remercie également, Docteur BENAÏSSA Toufik, Docteur BOUMEZRAG Assia, Professeur HAMMOUDI et Docteur MERRATI qu'ils trouvent ici nos vifs remerciements et notre gratitude pour leur aide et leur encouragement tout au long de ce mémoire.*

*Enfin, ne pouvant citer tous ceux et celles qui nous ont été d'un apport petit ou grand, nous leur adressons nos remerciements les plus sincères.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes parents mes frères et sœurs, mes professeurs pour leurs soutient durant cette épreuve, ainsi que mes chers frères,*

*Abdou, Anis, Massi, Ayoub, Chafik et Tahar.*

*A mes amies ; Yasmine et Hanane pour leur soutient durant toute la période de préparation de ce travail.*

*A mes frères de la promotion Infectiologie 2019 ; Houcine, Tarek, Brahim, Rabeh, Abdelkader.*

*Ainsi mes sœurs de la promotion*

*Je vous remercie tous.*

*\*\*\**

*Message aux futures promotions ;*

*« No matter what you have been through, you are still owed nothing.*

*Work hard for you. »*

**KADER**



## *Dédicace*

*Avec l'aide d'Allah le tout puissant, ce travail est achevé.*

*Je le dédie à toutes personnes qui me sont chère ;*

*Au deux être les plus chers au monde qui ont donnés sens à mon existence, et qui m'ont soutenu nuits et jours durant tout mon parcours. Qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.*

*Ma très chère mère qui a consacré sa vie pour bâtir la mienne, je lui serai éternellement reconnaissante, J'espère que mon travail sera le témoignage de ma gratitude et mon respect le plus profond, merci maman.*

*Mon très cher père qui m'a donné un magnifique modèle de volonté, merci papa, Avec mes prières qu'ils soient toujours en bonne santé.*

*A mes grand- mères: Badra et Mamia*

*Ames très chers frères : Benali, Abdelhak.*

*A mes très chères sœurs: Myriame, Nabila, et ma belle-sœurHafidha.*

*A mon très cher Abdelkader, de tout ce que déjà tu représentes pour moi, de ton soutien, de ta présence, de tout ce que tu m'apportes au quotidien.*

*A « la prunelle de mes yeux », ma nièce Sabrina et mon neveu Riadh.*

*A mon amie Asma, de tous nos moments fantastiques et parfois improbables passés et futurs.*

*A mes chères tantes, Habiba, Khadidja, Fatiha, Nabila.*

*A mes cousins et cousines : Lynda, Tadj, Ahmed.*

*A mes trinômes Abdelkader et Rachida.*

*A toute la promotion d'Infectiologie 2018 -2019.*

*A tous ceux qui me sont chers ...*

***Khadidja***

# *Dédicace*

*Avec l'aide d Allah le tous puissant, ce travail est achevé.*

*Je le dédie à toutes personnes qui me sont chère ;*

*A mes parents qui sont les deux êtres les plus chers au monde qui ont donnés sens à mon existence, et qui m'ont soutenu jours et nuit durant tout mon parcours.*

*Ma très chère mère qui a consacré sa vie pour bâtir la mienne, je lui serai éternellement reconnaissante, merci maman.*

*Mon très cher père qui m'a donné un magnifique modèle de volonté, merci papa, Avec mes prières qu'ils soient toujours en bonne santé.*

*A mon époux : Yousef*

*A mes très chères sœurs : Khadîdja et Sara*

*A mes adorables frères :Younes et Fayçal.*

*A mes amies :Ahlam,Fatiha,Sara et Fafa .*

*A toute la promotion d'Infectiologie 2018 /2019 professeur et étudiants.*

*A tous ceux qui me sont chers ...*

***Rachida***

*Introduction*  
*Générale*

## *Introduction générale*

---

La mammite est une maladie multifactorielle qui se caractérise par des changements physiques, chimiques et microbiologiques de la sécrétion lactée, ainsi que des modifications pathologiques dans le tissu mammaire (**Sharif et Muhammad, 2009**). Elle constitue une dominante pathologique dans tous les troupeaux laitiers.

Par les pertes qu'elle peut engendrer, la mammite représente une préoccupation majeure des agriculteurs dans les pays en voie de développement comme l'Algérie. En effet, il s'agit de la maladie la plus coûteuse et la plus répandue dans l'industrie laitière. En Algérie, les pertes annuelles dues à cette pathologie sont estimées entre 230,6 et 327,7 millions de dollars américains (**Kebbal et al, 2010**).

La plupart des cas de mammite sont d'origine infectieuse. En général, la mammite est due au développement de bactéries pathogènes dans le tissu mammaire. Les bactéries causant la mammite peuvent être classées selon qu'elles soient contagieuses ou qu'elles proviennent de l'environnement. Les bactéries classées comme contagieuses peuvent être transmises d'une vache à l'autre et comprennent entre autre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* et *Mycoplasma bovis*. Elles causent plus fréquemment une augmentation du CCS (comptage des cellules somatiques) ou des mammites subcliniques (**Descoteaux, 2004**).

Pour la mammite bovine, la résistance de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline est considérée comme le type d'antibiorésistance le plus connue et le plus important (**Barkema et al, 2006**). Cette résistance à la pénicilline peut expliquer en partie la difficulté du traitement de la mammite staphylococcique, étant donné que la probabilité de guérison du *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline est inférieure à celle des *Staphylococcus aureus* sensibles à la pénicilline (**Barkema et al, 2006**). De plus, il a été démontré que les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline sont souvent plus résistantes aux autres antibiotiques habituellement utilisés pour le traitement de la mammite, que les souches sensibles à la pénicilline (**Ziv et Storper, 1985 ; Sol et al, 1997**).

À la lumière de cette problématique et des préoccupations susmentionnées, il serait nécessaire de développer des méthodes de traitement alternatif pour contrôler la mammite bactérienne et par conséquent limiter l'apparition des mammites staphylococciques.

Dans cette perspective, l'investigation des plantes médicinales représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien seul ou en synergie avec les antibiotiques, ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Bruneton, 1999 ; Teuscher et al, 2005**).

## *Introduction générale*

---

Dans le bagage chimique des plantes, les huiles essentielles sont des produits odorants, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, elles représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans les industries pharmaceutiques. Les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux (**Bouzouita et al, 2008**).

Notre étude vise à démontrer l'effet antibactérien de l'huile essentiel d'*Eucalyptus*, du *Thymus* et de *Lavandula* vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline isolées à partir des cas de mammites subcliniques.

*Partie*  
*Bibliographique*

*Chapitre I*  
*Généralités sur*  
*la mammite bovine*

### **I.1 Mammite subclinique**

Les mammites subcliniques sont insidieuses et caractérisées par une absence de signes cliniques. L'inflammation due à l'infection s'accompagne essentiellement d'un afflux de cellules somatiques dans le lait du quartier infecté, particulièrement les polynucléaires neutrophiles, et par une modification de la composition chimique du lait (baisse des taux de caséine et de lactose, augmentation des taux d'électrolytes). Le diagnostic des mammites subcliniques repose sur la numération des cellules somatiques du lait, la mise en évidence des modifications chimiques et la recherche de la bactérie en cause. L'augmentation des cellules somatiques peut être révélée par des méthodes de comptage, comme le California Mastitis Test (CMT), le Fossomatic®, le Coulter Conter®, la conductivité électrique. Lors de mammite subclinique, les bactéries peuvent persister dans le pis et l'infection devenir chronique suite à l'expression de certaines propriétés. Par exemple, la formation d'un biofilm, la survie à l'intérieur des cellules épithéliales mammaires et/ou l'absence de synthèse d'une capsule sont considérées comme trois propriétés impliquées dans la chronicité d'une infection à *S. aureus* (Bardiau et al., 2014).

### **I.2 Mammite chronique**

Les mammites cliniques se caractérisent par la présence des signes cliniques fonctionnels et locaux, voire généraux. Les signes cliniques fonctionnels se traduisent par une modification de la sécrétion de la glande mammaire matérialisée par un changement de l'aspect du lait (grumeaux, sang ou caillots sanguins, pus dans le lait) et de la composition du lait. Les signes locaux sont ceux observés lors d'un processus inflammatoire classique à savoir : rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur du quartier atteint. Et enfin, les signes cliniques généraux se traduisent par de l'abattement, de l'anorexie, de l'hyperthermie, une arumination, une déshydratation et des troubles locomoteurs. Les infections mammaires cliniques peuvent être distinguées selon la sévérité de ces signes cliniques.

Ainsi, les mammites suraiguës se caractérisent par la rapidité de leur apparition et de leur évolution, souvent mortelles en l'absence de traitement. Elles peuvent revêtir deux formes chez les bovins, la forme paraplégique et la forme gangréneuse. La forme paraplégique est associée le plus souvent aux coliformes. Elle est caractérisée par une agalaxie brutale, une toxémie, une hyperthermie, une hypocalcémie, de la tachycardie, de l'anorexie, l'atonie du rumen et de la diarrhée. Le quartier atteint est chaud, enflé et douloureux. Le lait peut être blanc avec une consistance aqueuse ou devenir jaune et séreux avec des caillots observables à l'épreuve du bol à fond noir (Remy, 2004). Elles surviennent



généralement quelques jours après le vêlage (**Green et al., 1998**). Leur évolution peut être fatale (**Wenz et al., 2001**). Le diagnostic nécropsique montre des lésions localisées au niveau des canaux et des alvéoles (**Remy, 2004**). Les mammites gangréneuses sont relativement rares, souvent fatales pour les animaux atteints. Certains auteurs décrivent la mastectomie comme traitement de choix dans les mammites gangréneuses chez les ruminants (**Frank, 2002 ; Ribeiro et al., 2007**). *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* et *Escherichia coli* sont les bactéries prédominantes responsables de mammites gangréneuses chez les ruminants (**Bradley et Green et 2004 ; Atyabi et al., 2006**).

### **I.3 Mammité à *Staphylococcus aureus***

Les mammites à *S. aureus* peuvent revêtir diverses formes suivant qu'elles soient associées ou non à des signes cliniques (**Sutra et Poutrel, 1994**). Bien que *S. aureus* puisse provoquer des mammites cliniques aiguës, ces infections mammaires ont tendance à devenir chroniques. Cette capacité de *S. aureus* à provoquer une infection chronique est corrélée à sa faculté à échapper à la réponse immune et à persister à long terme dans des niches particulières au sein de la mamelle (**Humblet et Godeau, 2005 ; Wallemacq et al., 2010**).

Des formes de mammites suraigües ont également été rapportées, et elles sont caractérisées par une dégradation de l'état général, une déshydratation, une anorexie, avec une hypothermie ou une hyperthermie (**Strandberg et al., 2005 ; Wallemacq et al., 2010**). La forme gangréneuse est caractérisée par une forte inflammation, et une nécrose au niveau du quartier atteint qui devient froid, bleuâtre, avec une sécrétion gazeuse rouge foncée dégageant une odeur nauséabonde (**Rainard et Riollot, 2006 ; Strandberg et al., 2005 ; Wallemacq et al., 2010**).

*Chapitre II*  
*Généralités sur*  
*les huiles essentielles*

## **Généralités**

Depuis la nuit des temps, les plantes et leurs extraits ont été utilisées pour soulager la douleur, favoriser la cicatrisation, tuer les bactéries, ainsi que pour revitaliser et maintenir une bonne santé. Les extraits de plantes distillés ont été utilisés par l'humanité depuis des siècles dans les rites religieux, la parfumerie et l'hygiène.

Environ 60 huiles étaient connues et utilisées dans les parfums et les médicaments au début du 17<sup>ème</sup> siècle. Vers la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, l'action de l'huile de térébenthine (térébinthe) est observée par Koch en 1881 contre le bacille de l'anthrax. Elle sera bientôt suivie par les recherches de Chamberland (1887), qui ont prouvé les propriétés antiseptiques des huiles essentielles. Au 20<sup>ème</sup> siècle, les recherches de Cavel sur les effets individuels de 35 huiles essentielles sur les cultures microbiennes dans les eaux usées. Aujourd'hui, les propriétés des huiles volatiles aux herbes font l'objet de recherches dans de nombreux centres de recherche du monde entier, évaluant les propriétés antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles et de leurs constituants (**Price et Price, 2007**).

### **II.1 Définition**

Les huiles essentielles sont des composés naturels, complexes et volatils, caractérisés par une forte odeur. Elles sont formées par les plantes aromatique comme métabolite secondaire (**Bakkali et al, 2008**).

Les huiles essentielles sont obtenues par hydro-distillation, distillation à la vapeur ou distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (pour les agrumes) d'une plante ou de certaines de ses parties (**Rubiolo et al, 2010**).

### **II.2 Localisation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles botaniques parmi lesquelles les Lamiacées, les Astéracées, les Rutacées, les Cannelacées, les Lauracées, les Myrtacées et les Zingibéracées (**Bruneton, 1999**).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes : fleurs (rose) feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vetiver), rhizomes (cucurma, gingembre), fruits (anis, badiane) et graines (muscade) (**Sangwan et al, 2001**).

### **II.3 Rôle des huiles essentielles**

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et d'assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques (**Fouché et al, 2000**) :

Interaction plante-plante (inhibition de la germination et de la croissance).

Interaction plante animale, pour leur protection contre les prédateurs.

### **II.4 Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles**

C'est des liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau à laquelle elles sont généralement peu miscibles voire non miscibles. Liposolubles, elles sont en revanche solubles dans les solvants organiques usuels (**Jean, 2009**).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes et, beaucoup moins fréquents, le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatiles (**Jean, 2009**).

### **II.5 Activité des huiles essentielles**

#### **II.5.1 Activité antibactérienne**

Plusieurs recherches ont démontré le pouvoir antimicrobien de certaines essences sur une large palette de micro-organismes, y compris sur des bactéries résistantes aux antibiotiques. L'une des premières mises en évidence in vitro de l'activité antibactérienne des huiles essentielles date de la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, lorsqu'en 1875, Buchholtz a étudié la croissance des propriétés inhibitrices de l'huile des graines de carvi et de thym. Toutefois, il aura fallu attendre le début du XX<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Cox et al, 2000**).

#### **II.5.2 Activité antioxydante**

D'après une étude menée par Stefanovits-Bányai, (2003), l'équipe de recherche a constaté que l'effet antioxydant d'huiles essentielles est lié à la teneur en phénol. L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, et aldéhydes monoterpéniques : le tinalool, le 1,8-cineole, le géraniol/néral, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes:  $\alpha$ - terpinène,  $\gamma$ -terpinène et

l'α-terpinolène (**Piochon, 2008**).

### **II.5.3 Activité antifongique**

Selon **Nazzaro et al, (2017)**, l'activité antifongique de l'huile essentielle pourrait être due aux propriétés des terpènes qui, en raison de leur nature fortement lipophile et de leur faible poids moléculaire sont capables de perturber la membrane cellulaire, entraînant la mort cellulaire inhiber la sporulation et la germination des champignons responsables de la détérioration des aliments.

### **II.6 Toxicité des huiles essentielles**

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels : "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie (**Piochon, 2008**).

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde (**Smith et al, 2000**) ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines (**Naganuma et al, 1985**)). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme l'α-thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (**Franhomme et al, 1990**).

***Chapitre III***  
***Généralités sur***  
***les trois plantes***  
***utilisées***

### III.1 *Thymus fontanesii*

#### III.1.1 Historique

« *Thymus* » décrit un groupe de plantes aromatiques présentant des aspects similaires. Localement connu « zaatar ». En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre « thym » et « thyme ». Certains auteurs supposent que le nom *Thymus* vient probablement du latin "Thymus" qui signifie « parfumé » ou du grec "Thymos" qui signifie "courage" ou "force" (Stahl-Biskup *et al*, 2002).

Les grecques brûlaient cette herbe pour chasser les insectes piquants de la maison. Au moyen âge, les moines bénédictins apportaient du Thym en Europe centrale et en Angleterre car ils pensaient que les oreillers à Thym remédiaient l'épilepsie et la mélancolie. Au XVII<sup>e</sup> siècle, le Thym a été utilisé durant la peste noire qui a balayé l'Europe. Les Egyptiens s'en servaient pour embaumer les morts. Les Romains, de leur part brûlaient le Thym comme en cens pour éloigner les créatures venimeuses. Ils s'en servaient aussi pour aromatiser le fromage et les liqueurs (Charles, 2012).



Figure 1. *Thymus fontanesii* (photographie) ([www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org)).

### III.1.2 Description du *Thymus fontanesii*

*Thymus fontanesii* Boiss et Reut est une espèce endémique odorante. C'est une plante annuelle à fleurs blanches ou pâle (Dob et al, 2006). C'est une plante aromatique, sous-arbrisseau vivace à base ligneuse, pouvant mesurer jusqu'à 40cm de hauteur et possédant de petites feuilles de couleur verte foncée oblongues enroulées par les bords, et qui est recouverte de trichomes glandulaires contenant l'huile essentielle généralement composée de monoterpènes (Dob et al, 2006).

### III.1.3 Répartition géographique de la plante

Le genre *Thymus* appartient à la famille des labiées et comprend environ 350 espèces réparties entre l'Europe, l'Asie occidentale et la méditerranée. C'est une plante très répandue dans le nord-ouest africain (Algérie, Tunisie, Maroc et Libye). Elle pousse sur les montagnes d'Arabie du sud-ouest et d'Ethiopie comme elle se retrouve en Himalaya et même en Sibérie (Dob et al, 2006). Selon Nickavar et al, (2005), environ 110 espèces différentes du genre *thymus* se concentrent principalement dans le bassin méditerranéen. A cet effet la région méditerranéenne occidentale semble être le centre d'origine de ce genre.

L'Algérie est un pays doté d'une richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le *thymus* de la famille des lamiales comprend plusieurs espèces botaniques particulièrement répandues dans tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Saidj, 2006).

### III.1.4 Taxonomie

D'après Quezel et Santa, (1963), la systématique de *Thymus fontanesii* est la suivante :

Régne	Plantea
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embanchement	Angiospermes
Classe	Eudicotes
Sous-classe	Astérides
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus fontanesii</i>



### III.1.5 Huile essentielle du Thymus

L'essence de Thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (Rasooli et al, 2006). L'huile essentielle du thym est une huile susceptible de présenter de grandes variations, qui dépendent de plusieurs facteurs qui sont principalement d'origine génétique et les conditions climatiques, qui peuvent être aussi d'ordre saisonnier (stade végétatif) (Loziene et al, 2007). Ainsi, une étude menée par (Dob et al, 2006) a montré que le composé majoritaire de *Thymus fontanesii* d'Afrique est le thymol chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le carvacrol chez les espèces de Tunisie.

L'huile essentielle du Thym est extraite principalement à partir des feuilles et des sommités fleuries. La tige fleurie du thym contient en plus de l'huile essentielle des flavonoïdes et des acides-phénols, des tannins et une résine (Haragushi et al, 1996). Parmi les diverses propriétés de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*. Certains sont très bien établies, telles que antioxydant, insecticide, activité antibactérienne, antifongique, antiviral et anti-inflammatoire (Figueiredo. A et al, 2008 ; Pivetta. T et al, 2018).

Toutes ces activités sont liées à la teneur élevée en monoterpène, en composé phénoliques, en particulier en thymol et en carvacrol et d'autres composés plus au moins biologiquement actifs, notamment l'eugénol, le pcyménène, le  $\gamma$ -terpinène, linalol, le germiniol et le broneol (Stahl-Biskup, 2002).

### III.1.6 Propriétés pharmacologiques

Les propriétés pharmacologiques de la plante *Thymus fontanesii* et de ses différents extraits, en particulier l'huile essentielle, ont été bien étudiés. En plus de leurs nombreuses utilisations traditionnelles, la plante et ses extraits ont trouvé leur place en industrie (principalement comme additifs alimentaires) et en médecine (Hudaib et al, 2002). Les recherches réalisées sur les effets des extraits de cette plante in vitro et in vivo ont montré une grande importance pour la pharmacie, la médecine et l'industrie moderne, parmi lesquelles on cite les plus importants :

#### III.1.6.1 Effets antioxydants

Le thym est considéré comme l'un des fines herbes contenant les plus grandes capacités antioxydantes. Différents composés du thym lui permettent de posséder un tel statut, comme les phénols (thymol et carvacrol), les flavonoïdes, l'acide rosmarinique, l'acide caféique et la vitamine E (Kulišiu et al, 2006 ; Guillén et al, 1998). Des recherches ont été effectuées dans les années 1990 en Ecosse qui ont établi les vertus potentielles de la plante et de son huile

essentielle, en prévention du vieillissement (Iserin, 2001).

### III.1.6.2 Effets antimicrobiens

L'huile essentielle de thym, riche en phénols, est douée de propriétés antibactériennes facilement mises en évidence *in vitro* (Bruneton, 1999). L'huile essentielle de *Thymus fontanesii* témoigne d'un pouvoir antibactérien intéressant sur les bactéries gram positives comme sur les bactéries gram négatives (Sidali et al, 2017). D'autre part ces mêmes auteurs ont trouvé que l'huile essentielle de Thymus est douée d'une grande activité antimicrobienne qui est reliée au thymol qui est majoritaire de cette huile.

## III.2 *Eucalyptus* sp.

### III.2.1 Historique

Bien que les premiers explorateurs et collectionneurs européens aient dû apercevoir des eucalyptus, aucune collection botanique d'entre eux n'a été constituée avant 1770, lorsque Joseph Banks et Daniel Solander sont arrivés à Botany Bay avec James Cook. En 1777, lors de la troisième expédition de Cook, le botaniste David Nelson recueillit un eucalyptus sur Bruny Island, dans le sud de la Tasmanie. Ce spécimen a été emporté au British Museum de Londres, où il a été nommé *Eucalyptus obliqua* par le botaniste français Charles-Louis L'Héritier, qui travaillait à Londres à l'époque. Il a inventé le nom générique des racines grecques eu et calyptos, signifiant «bien» et «couvert», en référence à l'opercule du bouton floral. Cet organe protège les structures reproductrices pendant leur développement et soumis à la pression des étamines sémergentes lors de la floraison. Le nom *obliqua* vient du latin *obliquus*, qui signifie «oblique», décrivant une base de feuille dont les deux côtés du limbe sont de longueur inégale et ne rencontrent pas le pétiole au même endroit. L'exploration extensive des terres pendant le 19<sup>ème</sup> siècle a abouti à la découverte de nombreux nouveaux eucalyptus et à leur désignation ultérieure par plusieurs des grands botanistes de l'histoire australienne, notamment Ferdinand von Mueller, dont les travaux sur les eucalyptus ont grandement contribué à la première description complète du genre dans *Flora Australiensis* de George Bentham (1867), reste la seule flore australienne complète. Bentham a divisé le genre en cinq séries dont les distinctions étaient basées sur les caractéristiques des étamines, en particulier les anthères. Les catégories de chaque série étaient principalement basées sur les feuilles et sur la forme du bouton et du fruit (Blake, 1953 ; Coppen, 2002).

En 2000, l'auteur principal d'EUCLID a publié une classification officielle du genre, qui est une synthèse sous la forme d'une taxonomie mise à jour pour tenir compte des nombreux taxons publiés depuis le traitement de Chippendale en 1988. Bien que basé théoriquement sur les travaux de Pryor & Johnson, il reconnaît 13 sous-genres et assigne toutes les espèces connues jusqu'en 2000 à un système hiérarchique de sous-genres, sections, sous-sections, séries, sous-séries et supra-espèces (**Brooker. 2000**).

### **III.2.2 Description de la plante**

Les Eucalyptus sont de grands arbres dont certains peuvent dépasser 100 m de hauteur, mais la moyenne des espèces les plus courantes est de 40 à 50 m, d'autres ont des dimensions plus faibles. Le tronc comprend une écorce à la base foncée et rugueuse et, en hauteur, lisse, gris cendre laissant s'exfolier son épiderme en longs lambeaux souples et odorants (**Traore et al, 2013**).

Les eucalyptus portent des feuilles persistantes, coriaces, glabres mais différentes en fonction de l'âge des rameaux : les jeunes rameaux possèdent des feuilles larges, courtes, opposées, sessiles, ovales, bleu-blanc et cireuses, avec un vrai limbe enervuré. Les rameaux plus âgés possèdent des feuilles aromatiques, falciformes, longues de 12 à 30cm, étroites, pointues, épaisses, vert foncé, courtement pétiolées, alternes et pendantes verticalement. Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (**Goetz et al, 2012**).

Les eucalyptus sont connus pour leur capacité à coloniser des terrains nus ou dévastés à cause de leurs graines très nombreuses (et à faibles réserves) ; grâce à un organe souterrain, le lignotuber, même après une coupe ou un incendie; ils poussent sans marquer de dormance, tant que les conditions météorologiques ne sont pas défavorables. Ces dernières propriétés, ajoutées à sa grande valeur papetière, ont assuré à l'eucalyptus une dispersion et un succès mondiaux (**Goetz et al, 2012**).



Figure 2. Photographie personnelle de la tige du fruit et de la feuille d'*Eucalyptus* sp.

### III.2.3 Répartition géographique de l'*Eucalyptus*

Les *Eucalyptus* appartiennent à la famille des Myrtacées, c'est une famille de plantes dicotylédones, deux cotylédons sur l'embryon, deux feuilles constitutives de la graine. Ils sont répartis en 3000 espèces réparties en 134 genres environ. Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques des zones tempérées, subtropicales à tropicales, poussant principalement en Australie, en Amérique tropicale, région méditerranéenne, l'Afrique subsaharienne, Madagascar, tropicales et tempérées d'Asie, et les îles du Pacifique. Les principaux genres de cette famille sont : *Eucalyptus*, *Psidium* dont fait partie le goyavier, *Myrtus* dont fait partie le myrte (arbuste du maquis méditerranéen), *Eugenia* dont le giroflier (*Eugenia caryophyllata*) qui donne le clou de girofle. On rencontre aussi des espèces dont les fruits sont comestibles (genres *Feijoa*, *Eugenia*, *Campomanesia*), et une espèce de figuier étrange leur en Nouvelle-Zélande (*Metrosideros robusta*). Beaucoup d'espèces appartenant à cette famille sont une source d'huiles essentielles, elles sont utilisées dans la parfumerie ou en thérapeutique.

Les espèces à fruits charnus sont disséminées par les oiseaux et les mammifères; les espèces à fruits capsulaire sont de petites graines parfois ailées qui sont disséminées par le vent ou par l'eau (Bruneton, 1999).

Selon Chevalier, (1952), il existe trois espèces d'*Eucalyptus* en Algérie, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus camaldulensis* et *Eucalyptus citriodora*.



Figure 3. Fruit d'*E.camaldulensis* (Photographie). ([www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org))



Figure 4. Fruit d'*E.globulus* (Photographie). ([www.tela-botanica.org](http://www.tela-botanica.org))



Figure 5. Fruit d'*E.citriodora* (Photographie). ([www.tela-botanice.org](http://www.tela-botanice.org))

### III.2.4 Taxonomie

Régne	Plantea
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida - Dicotylédones
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus

### III.2.5 Propriétés de l'Eucalyptus

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) reconnaît l'usage traditionnel des feuilles d'Eucalyptus, de l'HE (*E. globulus*) pour soulager la fièvre et les symptômes de l'asthme, pour traiter l'inflammation des voies respiratoires, de la gorge ou des muqueuses de la bouche (voie interne) ainsi que pour soulager les douleurs rhumatismales (voie externe).

Des essais sur des souris ont cependant permis d'observer que l'Eucalyptus exerce une activité antidouleur (**Atta et al, 1998 ; Santos et al, 2000**).

L'huile essentielle d'Eucalyptus citronné (*E. citriodora*) est un remède traditionnel pour éloigner les insectes piqueurs (**Baudoux, 2002**). Au cours d'une étude croisée menée en Suède, un insectifuge à base d'Eucalyptus citronné (Citriodiol) a réduit de moitié les morsures de tiques (*Ixodes ricinus*) subies par 111 participants à des activités de plein air. Au cours d'un essai effectué en Malaisie, un produit à base d'Eucalyptus citronné a été très efficace pour prévenir les morsures de sangsues (*Haemadipsasylvestris*) (**Meister et al, 1999 ; Tesche et al, 2008**).

## III.3 Lavandula sp.

### III.3.1 Historique

Depuis l'antiquité la lavande a été bien connue pour ses propriétés et ses usages aromatiques et médicinales, en effet le mot « lavande » dérive du latin « lavare » qui veut dire « laver » car les Romains avaient l'habitude de parfumaient leur bain avec cette plante pour son double effet :

La lavande parfumait leur corps mais surtout le protégeait contre les maladies grâce à son grand pouvoir antiseptique et antibiotique, les guerriers romains l'utilisaient aussi comme désinfectant lors des combats (**Barrett, 1996**).

Dans l'ancienne Egypte il a été utilisé pour imbiber des tissus de coton lors de la momification, dans la médecine Chinoise traditionnelle, il a été utilisé pour traiter l'infertilité, les infections, l'anxiété et la fièvre (**Wilson et al, 2007**).

La lavande avait pour longtemps une large utilisation dans la médecine arabe pour traiter les problèmes du système digestif et surtout l'estomac et pour les problèmes rénaux.

En France, à l'époque médiévale pour marquer les mauvaises odeurs, le goût de la viande avariée et pour prévenir les maladies-, il serait plus plausible que son nom dérive de livere, être livide ou être bleue, du latin médiéval *lavandula* (**Wilson et al, 2007**).

Actuellement cette plante est utilisée dans l'aromathérapie en première place pour son



huile essentiel incomparable mais aussi dans l'industrie cosmétique, parfumerie et culinaire.

### **III.3.2 Description de la lavande**

A l'état sauvage, il en existe plus d'une centaine de variétés et de chémotypes différents (Wichtl et al, 1999). Suivant les espèces, ce sous-arbrisseau vivace mesure de 30 à 70 cm de haut et porte des fleurs bleues, pourpres ou violettes, groupées en épis. Certains cultivars arborent des fleurs roses ou blanches. La floraison commence en mars et s'épanouit de Juillet à Aout, en dégageant un parfum très agréable, frais, léger et fleur durant toute sa période de floraison (Palikan. 2002).

Les feuilles sont étroites, sans pétiole ni dents, de couleur vert bleuté, disposées en paires opposées. Les jeunes feuilles sont souvent blanchâtres, ce qui donne à la plante sa teinte gris argenté caractéristique. Les feuilles peuvent mesurer jusqu'à 5 cm de longueur et sont à la fois amères et aromatiques (Palikan. 2002).

Les tiges sont courtes, dressées, très ramifiées, ligneuses à la base (Small et al., 2001). La tendance spiralée des rameaux se résorbe presque en unerosette, portant de long setmincépis de fleurs (Palikan. 2002).

Les racines peuvent pousser jusqu' une profondeur de 4 m et forment un gros système ligneux densément ramifié en profondeur. Cette plante tolère un pH de 6,4 à 8,2 (Small et al, 2001).

La lavande nécessite un endroit ensoleillé, où la température ne descend pas en dessous de (- 10°C) et surtout, sec (Festy et al, 2012).

Elle pousse à l'état sauvage, sur les terres rocailleux et ensoleilles. Elle s'adapte bien aux hivers plus froids des régions tempérées si le sol est bien drainé.

Elle aime les terrains calcaires de la méditerranée occidentale. Plus le sol où elle pousse est aride, plus son essence est fine (Palikan. 2002).

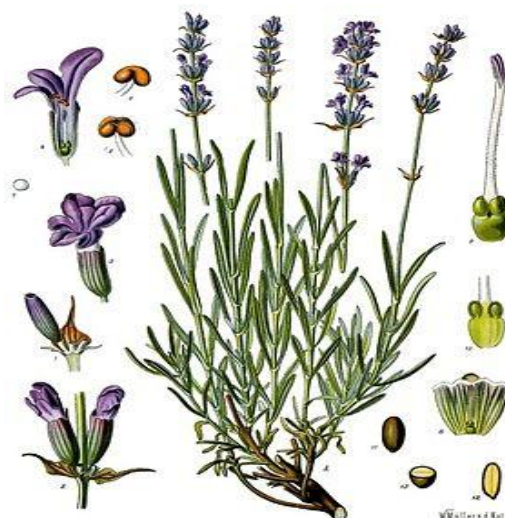


Figure 6. Planche de *lavandula sp.* (Anonyme 2009)

### III.3.3 Répartition géographique de la plante

Elle pousse dans certaines îles de l'Atlantique, depuis le bassin méditerranéen jusqu'au nord de l'Afrique tropicale, au Moyen Orient et à l'Inde (Small et Deutsch, 2001).

### III.3.4 Taxonomie

Selon Dupont et Guignard, (2007), la lavande appartient à l'embranchement des Spermaphytes, et suivant la classification classique des plantes à fleurs, elle est classée comme suit:

<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida - Dicotylédones
<b>Sous-classe</b>	Asteridées
<b>Ordre</b>	Lamiale
<b>Famille</b>	Lamiacées

### III.3.5 Propriétés de la lavande

Toutes les parties de la lavande, soit les tiges, les feuilles et surtout les fleurs sont aromatiques, chaudes, amères et stimulantes. Dans les espèces de lavandes, le principe aromatique prédomine sur le principe amer. Ce principe aromatique communique à ces plantes à un degré éminent, les propriétés chaudes et excitant, propre à cette famille. Le principe amer les rend toniques et stomachiques. Cette plante est éminemment céphalique, nerval, antispasmodique et antihistérique (Schauenberg et al, 2010).



Les sommités de la plante sont imprégnées d'une sécrétion huileuse, légèrement résineuse et très volatile. Cette huile volatile est renfermée dans de petites urticules répandues sur la surface des bractées, des corolles, mais surtout des calices. Elle paraît contenir tout le principe aromatique des lavandes, et se combine plus aisément avec les liquides alcooliques qu'avec l'eau. Il serait nécessaire de soumettre séparément les feuilles et les fleurs à l'analyse chimique, car, les queues ou hampes nues de la lavande et sans doute aussi les feuilles, ne contiennent qu'une très petite quantité d'huile, mais probablement une plus grande proportion d'extrait amer (**Palikan. 2002**).

*Chapitre IV*  
*Généralités sur*  
*les Staphylococcus*  
*aureus*

### IV.1 Historique

Les staphylocoques ont été isolés pour la première fois dans du pus humain en 1880 par le chirurgien écossais Alexander Ogston. Les staphylocoques ont été isolés pour la première fois dans du pus humain en 1880 par le chirurgien écossais Alexander Ogston. En 1886, un chirurgien allemand Anton J. Rosenbach isola deux souches de *Staphylococcus* en culture pure (**Rosenbach, 1884**). L'un d'entre eux était *Staphylococcus aureus*, ainsi nommé en raison de la couleur des colonies pigmentées (aureus signifie couleur dorée en latin). Dans les années 1920, il a été reconnu que la présence de coagulase (une enzyme qui coagule le plasma) était associée à la pathogénicité, et un test à la coagulase mis au point à la fin des années 1930 constituait un progrès important dans le diagnostic. Au cours de la Seconde Guerre mondiale, la pénicilline a été introduite pour une utilisation clinique: *Staphylococcus aureus* était très sensible. Cependant, à la fin des années 1940, l'utilisation de la pénicilline était courante dans les hôpitaux et les souches résistantes ont commencé à être plus nombreuses que les souches sensibles. La résistance accrue stimule le développement de pénicillines semi-synthétiques, telles que la méthicilline, mais dans les années 1990, les hôpitaux signalaient des taux élevés de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) ainsi que des cas émergents de SARM d'origine communautaire, désormais un problème important dans certaines parties du monde (**Chambers et DeLeo, 2009; David et Daum, 2010**).

### IV.2 Présentation du germe

*Staphylococcus aureus* (parfois nommé Staphylocoque doré) est un coque à Gram positif anaérobie facultatif, catalase positive, oxydase négative, appartenant à la famille des Staphylococcaceae dans l'ordre de Bacillales. Ces germes peuvent être isolés, regroupés en diplocoques mais plus généralement en amas. Ce coque immobile est d'un diamètre de 0,5 µm à 1 µm. Il s'agit d'un germe mésophile qui se multiplie dans une plage de température allant de 6 à 48°C avec un optimum de croissance à 37°C. Il est capable de croître dans des conditions d'aérobiose comme d'anaérobiose. Il supporte aussi bien les milieux acides que basiques puisqu'il est capable de croître dans une gamme de pH allant de 4 à 9,3. Cette bactérie est capable de se multiplier en présence de NaCl. Par ailleurs ce germe présente une capacité de survie importante dans l'environnement (**Garry, 2006**).

### IV.3 Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus* est lié à la production de toxines appelées entérotoxines staphylococciques (SE). Ses toxines ayant pour objet de détourner ou de neutraliser la réponse immune de l'hôte infecté. Accessoirement, la dégradation cellulaire que provoquent certaines toxines peut constituer une manne providentielle pour le développement bactérien. Ainsi, bien que les déterminants génétiques soient localisés sur le chromosome dans des bactériophages stabilisés, des plasmides ou des séquences d'insertion, ces toxines semblent exprimées dans une complémentarité bien organisée et destinée à rendre défaillant l'être infecté, souvent affaibli lui-même. La bactérie neutralise la fonction et la genèse de la réponse humorale, de la réponse cytotoxique et du chimiotactisme des polynucléaires, et dévie la réponse inflammatoire (Garry, 2006; Vincenot, Saleh et al. 2008; Fratini, Mancini et al. 2017).

### IV.4 Résistance à la pénicilline

L'inefficacité de la pénicilline vis à vis les staphylococcus aureus est due à la résistance à l'action antibactérienne de la benzylpénicilline, par la formation la pénicillinase qui est une enzyme, qui cible le noyau bêta-lactame de la molécule de la pénicilline (Dyke, Jevons et al. 1966).

### IV.5 Importance des *Staphylococcus aureus* dans la mammite bovine

Les mammites à *Staphylococcus* (S.) aureus sont considérées comme l'une des maladies majeures chez les vaches laitières, causant de lourdes pertes économiques principalement dues à la réduction de la qualité et de la quantité de lait produit. Elles se caractérisent fréquemment par des formes subcliniques et chroniques, rendant leur diagnostic et leur contrôle difficile. La pathogénie des infections mammaires à S. aureus n'est pas encore complètement élucidée, mais comprend notamment l'intervention de nombreux facteurs de virulence tels que des toxines, et des protéines ou des polysaccharides de surface (Wallemacq, Girard et al. 2010).

*Partie*  
*Expérimentale*

*Chapitre I*  
*Matériel et méthodes*

### **V.1 Objectif de travail**

L'Objectif de notre étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne des trois huiles essentielles vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* isolés de cas de mammites bovines sub-clinique.

### **V.2 Lieu et période d'étude**

Notre travail a été réalisées au niveau l'institute vétérinaire de l'université IBN KHALDOUN Tiaret- et au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie IBN KHALDOUN-Tiaret- durant la période s'étendant de Février à Juin 2019.

### **V.3 Matériel et produits**

#### **V.3.1 Matériel biologique**

- **Matière végétale**

Les plantes utilisées (Thymus, Eucalyptus et Lavande) ont étaient récolté dans la région de Tiaret, et identifiées par Dr.Miara botaniste au du département des sciences de la Nature et de la Vie de la faculté d'IBN KHALDOUN-Tiaret-

- **Souches bactériennes**

Les souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* utilisées ont étaient isolés de cas de mammite sub-clinique dans la ferme pilote de l'institut des Sciences Vétérinaire de l'université d'IBN KHALDOUN-Tiaret.

- **Souche ATCC**

La souche ATCC (American Type Culture Collection) de *Staphylococcus aureus* numéro 25923 à été fournis par L'Istite des Sciences Vétirinaire d'IBN KHALDOUN-Tiaret-

### V.3.2 Matériel de laboratoire

Le matériel utilisé au niveau de laboratoire est présenté dans le tableau suivant :

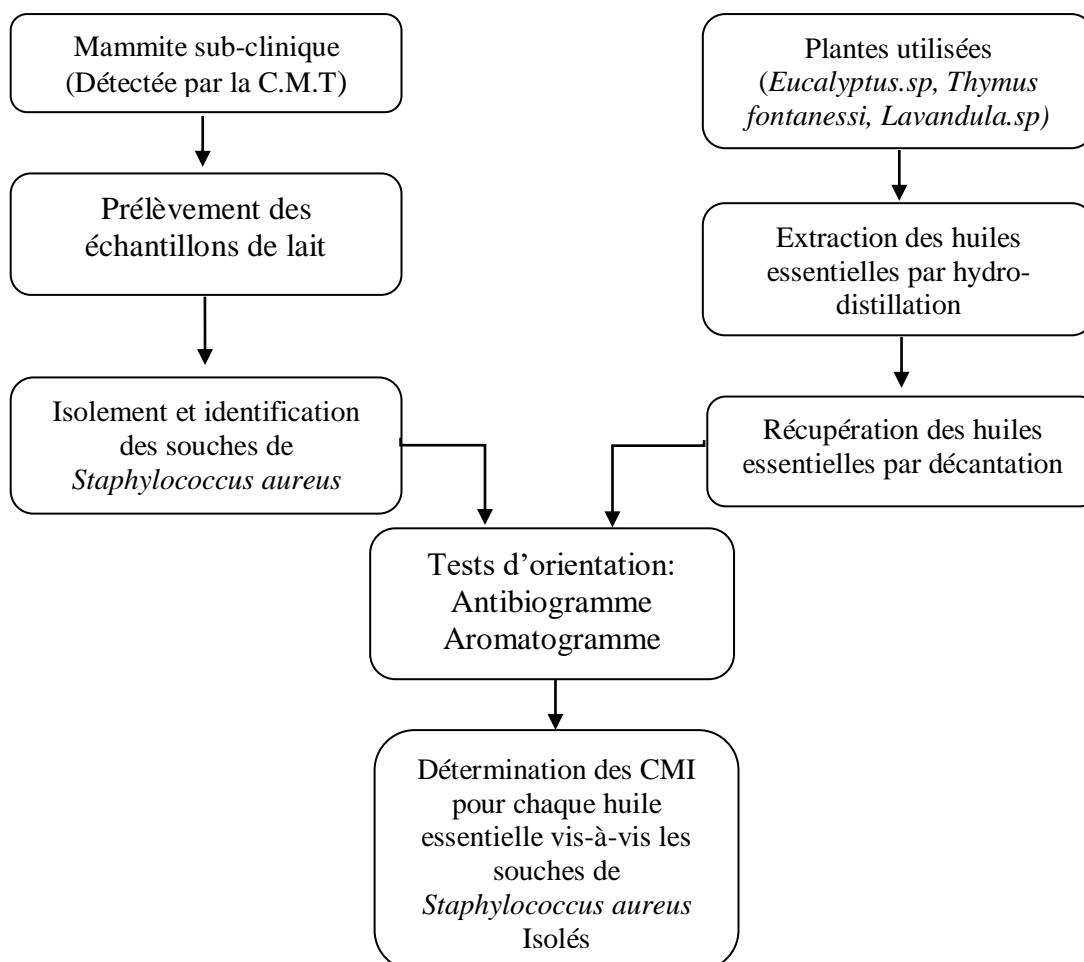
**Tableau 1. Verreries et appareillage. (Annexe I)**

Verreries et autres	Appareillage
Ballon 500ml, Ampoule à décantation, Bêchers, Boîtes de Pétri, Flacons, Micropipette, Papiers Wattman, Pipettes de Pasteur, Pince, Tubes à essais, Verre de montre, Pissette, Eprouvette, Eau de javel Alcool	Autoclave (Wolf) Agitateur (Stuart) Balance (Sartorius) Spectrophotomètre (NovaspecII) Vortex (Techno kartel) Incubateur (Memmert) Stérilisateur (Heraeus) Réfrigérateur (Condor)

### V.4 Méthodes

Le protocole expérimental utilisé dans ce travail est représenté comme suit ;

#### V.4.1 Protocole expérimental





#### V.4.2 Extraction des huiles essentielles

- **Hydrodistillation**

Les opérations d'extraction des huiles essentielles d'*Eucalyptus*, du *Thym* et de *Lavande* ont été réalisés au niveau de laboratoire de pharmacologie de l'institut vétérinaire de l'université IBN KHALDOUN –Tiaret- .

L'hydrodistillation est un mode d'extraction qui a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les huiles essentielles et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements (**Bruneton J., 1999**).

Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon rempli d'eau distillée placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et le distillat est recueilli dans une ampoule et par la suite l'huile essentielle sera séparée de l'eau par décantation à laquelle on ajoute du sulfate de sodium pour éliminer les traces d'eau. Finalement elle sera récupérée dans un flacon approprié et pesée pour le calcul du rendement.

Cette opération a été réalisée grâce à un montage nommé: **Hydrodistillateur**

- **Procédé d'extraction des huiles essentielles**

**Séchage:** les plantes ont été séchées dans une cuve à une température de 37°C pendant 24 heures.

**Triage :** on a sélectionné la partie supérieure de la plante saine puis elle est découpée en petits morceaux.

#### **Dispositif d'extraction**

L'extraction de l'huile essentielle de thym, eucalyptus et lavande a été réalisée grâce à un hydrodistillateur. Il est constitué d'un ballon en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée sur un bec bunsen, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre pyrex (ampoule) également qui reçoit les extraits de la distillation.



**Figure 7.** Dispositif d'hydrodistillation utilisé pour l'extraction des huiles essentielles

- **Description d'extraction des huiles essentielles**

La plante a été mise dans un ballon en verre pyrex (50 grammes de matières végétales pour le thym et 60 grammes pour la lavande et l'eucalyptus), additionnées de 600 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition, lors de l'apparition de la première goutte du distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur (on attend 1 heure 30 min) l'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par un condensateur, fixé par un support approprié en position horizontale inclinée légèrement pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps de cette extraction est d'environ 2 heures. Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décanter. Le mélange est laissé au repos quelques minutes. En fin l'huile essentielle est séparée du distillat par décantation puis récupérée dans un flacon appropriée et pesé pour le calcul du rendement.

#### V.4.3 Détermination du rendement d'extraction

On a calculé le rendement selon la norme **AFNOR(1986)** qui dit que le rendement en huile essentielle (Rd), est défini Comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante :

$$Rd = M'/M.100$$

**Rd:** Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%) ;

**M':** Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g);

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

#### V.4.4 Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela nous avons conservé l'huile essentielle à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre stérile fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier d'aluminium).

#### V.4.5 Prélèvements du lait mammitiqueux

Un échantillon de lait d'environ 5 ml est prélevé à partir de chaque quartier présentant une réaction positive au CMT.

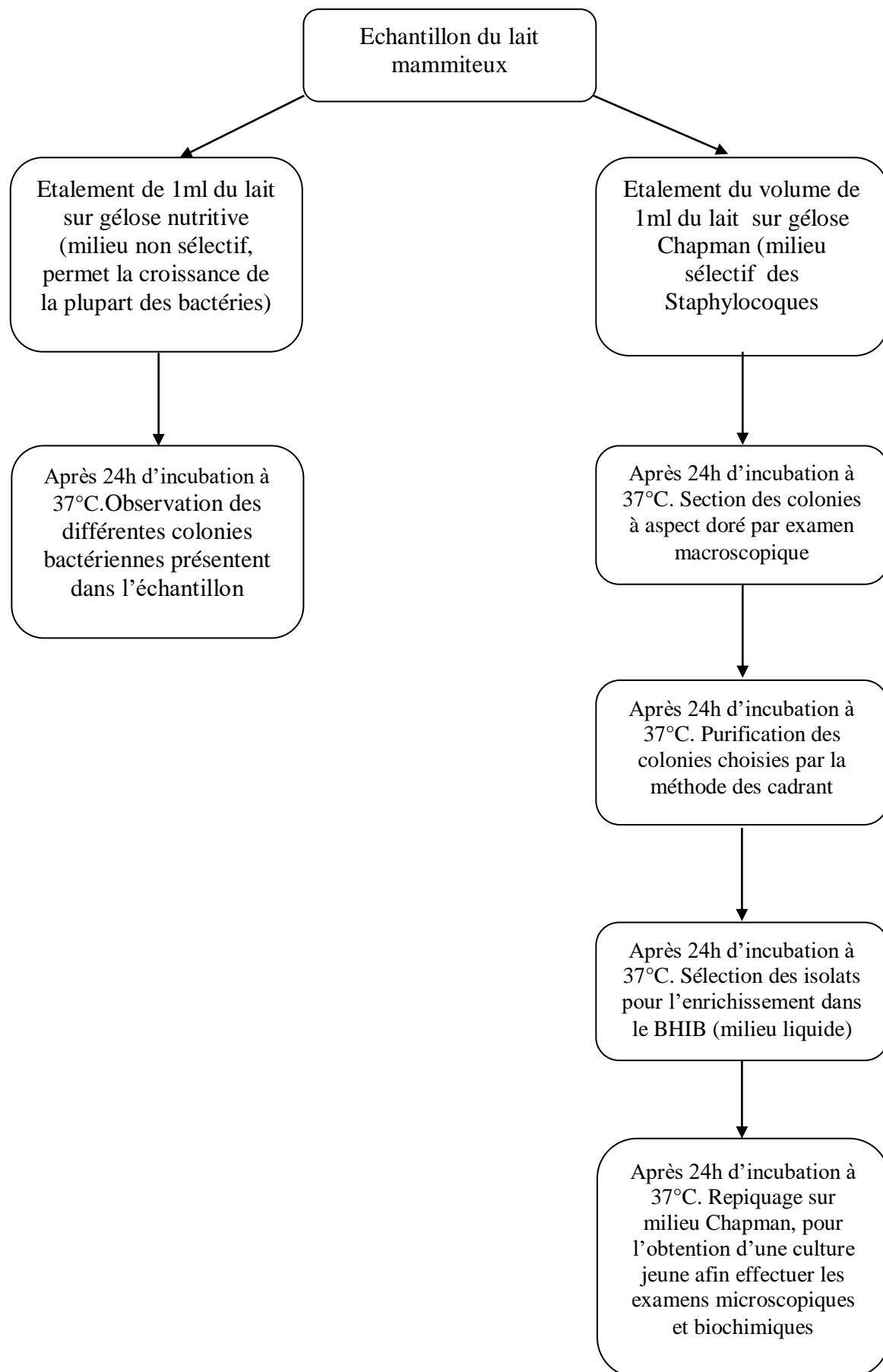
Nous avons accordé une grande importance au respect des règles d'asepsie et d'antisepsie au cours de la réalisation de ces prélèvements à cause de l'ubiquité des champignons pouvant influencer le diagnostic. En effet, pour limiter au maximum la contamination des prélèvements de lait, une double désinfection du trayon était réalisée avant de procéder au prélèvement des échantillons. Les échantillons de lait ont été collectés selon les recommandations de la *National Mastitis Council (Hogan et al, 1999)* :

1. Elimination des premiers jets dans un bol à fond noir et examen visuel du lait.
2. Lavage de la mamelle avec l'eau et élimination des particules d'excréments.
3. Essuyage avec une éponge propre.
4. Désinfection des trayons en les trempant dans une solution désinfectante à l'aide d'un gobelet Twin-dipper de trempage anti-retour en recouvrant toute la surface du trayon pour une efficacité maximale.
5. Essuyage avec du papier absorbant.

6. Désinfection de l'extrémité du trayon à l'aide d'alcool, puis essuyage avec une compresse stérile.
7. La récolte du lait se fait en orientant le trayon horizontalement. Le flacon est maintenu incliné 45° pour éviter de le contaminer avec les salissures de la mamelle.
8. Marquage et identification du flacon (numéro de la vache, quartier).
9. Les tubes du lait ont été transportés dans une glacière à une température de 4-8°C jusqu'au laboratoire.

#### **V.4.6 Analyse et identification du lait maternel**

L'objectif de cette étape est d'analyser les différents prélèvements obtenus dans le but d'identifier le genre et l'espèce des bactéries pathogènes. Le schéma général suivi au niveau du laboratoire est résumé dans le protocole suivant :



#### V.4.7 Purification et identification des souches bactériennes

Après l'isolement des colonies de bactéries à partir des échantillons du lait mammiteux, on a entamé des séries de purification comme mentionné dans le protocole dans la page précédente, la purification des souches bactériennes consiste à effectuer des séries de repiquage dans le milieu sélectif (Chapman dans notre cas) à fin d'avoir des colonies bien isolées, puis on a passé aux tests d'identification qui sont l'étape clé dans la vérification de la pureté des souches obtenus ;

- **Examen microscopique**

Dans l'examen microscopique on a opté pour la coloration de gram (Claus, 1992), qui est un examen préliminaire dans l'identification des souches bactériennes tel que *Staphylococcus aureus*, afin de déterminer leur morphologie et leur type (Gram<sup>+</sup> ou Gram<sup>-</sup>).

- **Test catalase**

À partir d'une culture jeune de 18-24h, une colonie de bactérie est prélevée, puis placée sur une lame stérile. On fait réagir la colonie avec une goutte de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), (Garnier et Denis, 2007). Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène).

- **Test DNase**

À partir d'une culture jeune de 18-24h on passe un écouvillon stérile sur la surface de la boîte afin de prélever une quantité importante de bactéries. Puis on ensemence ces derniers sur une gélose DNase en une seule strie au milieu de la boîte. Après une incubation de 24h à 37°C. La lecture est faite par l'ajout d'un volume considérable de HCl dilué 1N à la surface de la gélose. L'excès de la solution est éliminé, et la lecture est faite après 10-15 min après le contact entre l'HCl et la surface de la gélose par l'apparition d'une zone claire autour de la strie ce qui se traduit par hydrolyse de l'ADN et son utilisation comme source de carbone et d'énergie pour la croissance bactérienne (Kateete, D et al ; 2010).

- **Test coagulase**

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir des *Staphylococcus sp.* à produire ou pas une enzyme appelée la coagulase. Sa mise en évidence permet seule, d'affirmer la présence de *Staphylococcus aureus*. Cette enzyme est capable de coaguler le plasma de

lapin (Sperber, et al. 1975).

Pour réaliser ce test, on a incubé une colonie prélevé à partir du milieu Chapman dans 5 ml de BHIB à 37°C, pendant 24 heures. Dans un tube à hémolyse stérile, 0,5 ml de plasma citraté et 0,5 ml de la culture de BHIB sont mélangés, puis incubés à 37°C. Une lecture doit être effectuée après 4 heures ensuite après 18h. S'il y a formation d'un coagulât, la souche est qualifiée comme étant *Staphylococcus aureus* (Sperber, et al. 1975).

## V.5 Activité antimicrobienne des huiles essentielles

### V.5.1 Antibiogramme

L'Agar Mueller-Hinton à été coulé dans des boites de pétri stériles. Les disques de l'antibiotique (Pénicilline G) ont été placés sur les surfaces de gélose inoculée. Les boîtes de Pétri sont maintenues pendant 30 min à une température de 25-30 °C et sont ensuite incubées à 37°C/24h. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres. Les souches ont identifiées autant résistante au antibiotique utilisé si le diamètre de DZI est  $\leq 8$  mm (Rahal1999).

### V.5.2 Aromatogramme

La sensibilité des souches aux huiles essentielles a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu solide. Des disques stériles ont été imprégnés par de l'huile essentielle pure (5  $\mu$ l) et placés à la surface de gélose nutritive coulée dans des boites de Pétri. Auparavant, un inoculum de 0,5 McFarland (soit 108 UFC/ml) était préparé à l'aide d'un spectrophotomètre et étalé à l'aide d'un écouvillon stérile à la surface de la gélose nutritive. L'incubation est réalisée à 37°C, pendant 24 heures. A l'issue de cette période d'incubation, la lecture des résultats est faite en mesurant la zone d'inhibition (Rahal1999).

La sensibilité aux différents huiles essentielles est classée selon le diamètre de l'halot de la zone d'inhibition : insensible (-) si le diamètre de la zone d'inhibition est moins de 8mm ; sensible (+) avec des diamètres compris entre 9 et 14 mm ; très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19mm ; et extrêmement sensible (+++) pour des diamètres plus de 20 mm (Ponce et al, 2003). Le test de sensibilité aux huiles essentielles a été réalisé en triplicata.

### V.5.3 Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Seules les huiles essentielles ayant présentées une zone d'inhibition de plus de 20 mm par la méthode de diffusion en milieu solide ont été retenues pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice.

La CMI est définie comme étant la concentration la plus faible de la substance antimicrobienne qui inhibe la croissance des micro-organismes. La détermination des CMI des extraits de plantes vis-à-vis des souches étudiées est réalisée selon la technique de microtitration sur plaques à 96 puits (**Edition, A.S.N. 2012**).

Après 24 h de culture sur gélose nutritive à 37°C, les suspensions bactériennes ont été préparées dans 5 ml de solution saline à 0,85% et ajustées à 0,5 Mc Farland.

Une solution mère des huiles essentielles a été préparée en utilisant du Tween 80 dissous dans de l'eau distillée stérile (1/9, v/v), à partir de laquelle on a préparé des solutions finales par double dilution.

Des solutions primaires ont été préparées à partir de la solution mère par dilution en série en utilisant du Tween 80 dissous (10%) dans des tubes à essai stériles pour atteindre des concentrations en huile essentielle de: (1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160 et 1/320).

Les solutions finales des huiles essentielles ont été obtenues à partir de solutions primaires en ajoutant de manière aseptique 0,5 ml de la solution primaire préparée à 4,5 ml de bouillon Mueller-Hinton pour obtenir des concentrations finales de : 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200, v/v. Des volumes de 95 µl des solutions diluées finales ont été distribués dans les puits de la plaque de microtitration, et 5 µl des inocula préparés ont été ajoutés aux puits correspondants. Des témoins positifs de croissance (sans huile essentielle) et des témoins négatifs de stérilité (sans bactéries) ont été réalisés. La détermination de la CMI a été faite en triplicata.

A l'issue de l'incubation des plaques contenant les bactéries et les suspensions des huiles essentielles à 37°C pendant 24 h, 20 µl de chlorure de 2, 3,5-triphényltétrazolium (TTC) à 0,5% ont été ajoutés à chaque puits. La CMI a été enregistrée comme étant la plus faible concentration en huile essentielle pour laquelle aucune croissance n'a été visualisée (**Edition, A.S.N. 2012**).



*Chapitre II*  
*Résultats et discussion*

### VI.1 Rendement d'extraction des huiles essentielles

Les rendements d'extraction des huiles essentielles sont représentés dans la figure suivante :

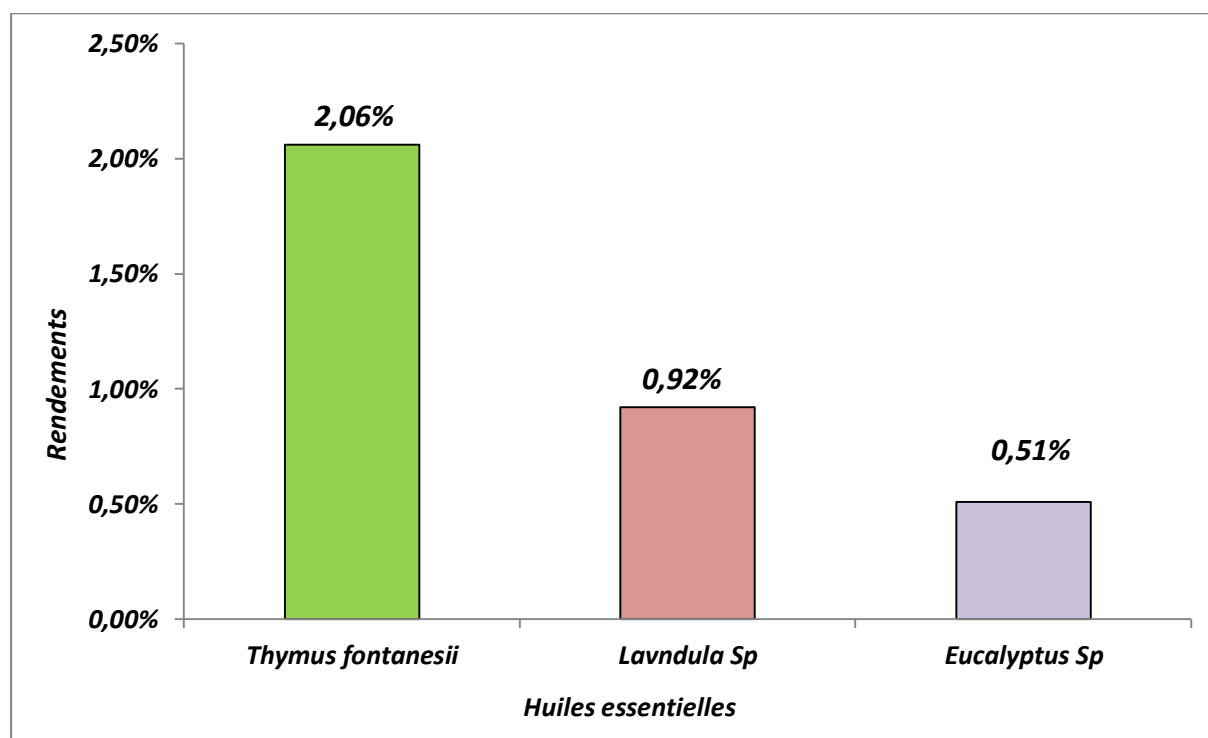


Figure XX. Rendement d'extraction des huiles essentielles

Le rendement du thym était de 2,06%. Ce rendement est faible par rapport à celui rapporté par **Mohammedi et al ; (2010)**, qui ont obtenu un rendement de 3,09% à partir d'un *Thymus fontanesii* récolté dans la région nord-ouest de l'Algérie.

Pour la lavande, le rendement en huile essentielle était de 0,92%. Ce résultat est considéré optimal si on prend en considération ceux rapportés par **Sidi Boulouar et Ziane, (2003)**, qui indiquent que les fleurs sèches de la lavande provenant de la région d'Ouchba et de la région de Zarifet dans la wilaya de Tlemcen ont donné des teneurs en huile essentielle équivalentes à 0,94% et 0,70%, respectivement.

Tandis que pour l'huile essentielle d'*Eucalyptus.sp*, le rendement était très faible (0,51%) en comparaison avec le rendement obtenu par **Hmiri et al ; (2011)**, à partir d'eucalyptus récolté de la région de Maamora au Maroc, qui était de 1,40%.

## VI.2 Identification des souches bactériennes

Les résultats de l'analyse et l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir des échantillons du lait mammitieux sont dans le tableau suivant (Annexe II):

Tableau 3. Résultats des tests d'identification des souches bactériennes

	ATCC	S1	S2
Coloration de Gram	+	+	+
Test catalase	+	+	+
Test coagulase	+	+	+
Test dnase	+	+	+

## VI.3 Activité antibactérienne des huiles essentielles

### VI.3.1 Antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme des souches de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis la pénicilline (G), ont montrés que toutes les souches sont résistantes à cet antibiotique. Résultats dans tableau suivant (Annexe III) :

Tableau 4. Résultats de l'antibiogramme vis-à-vis les souches de *S.aureus*.

	Diamètre des zones d'inhibition en mm
ATCC	6
S1	6
S2	6

S1 : Souche *S.aureus* n°1 ; S2 : Souche *S.aureus* n°2

## VI.3.2 Aromatogramme

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *thymus fontanesii*, de l'eucalyptus et de la lavande en utilisant la méthode de diffusion sur disque nous a permis d'obtenir des résultats préliminaires à propos de leur pouvoir antibactérien vis-à-vis des souches bactériennes testées.

La figure ci-dessous présente les diamètres des zones d'inhibition en mm (Annexe III).

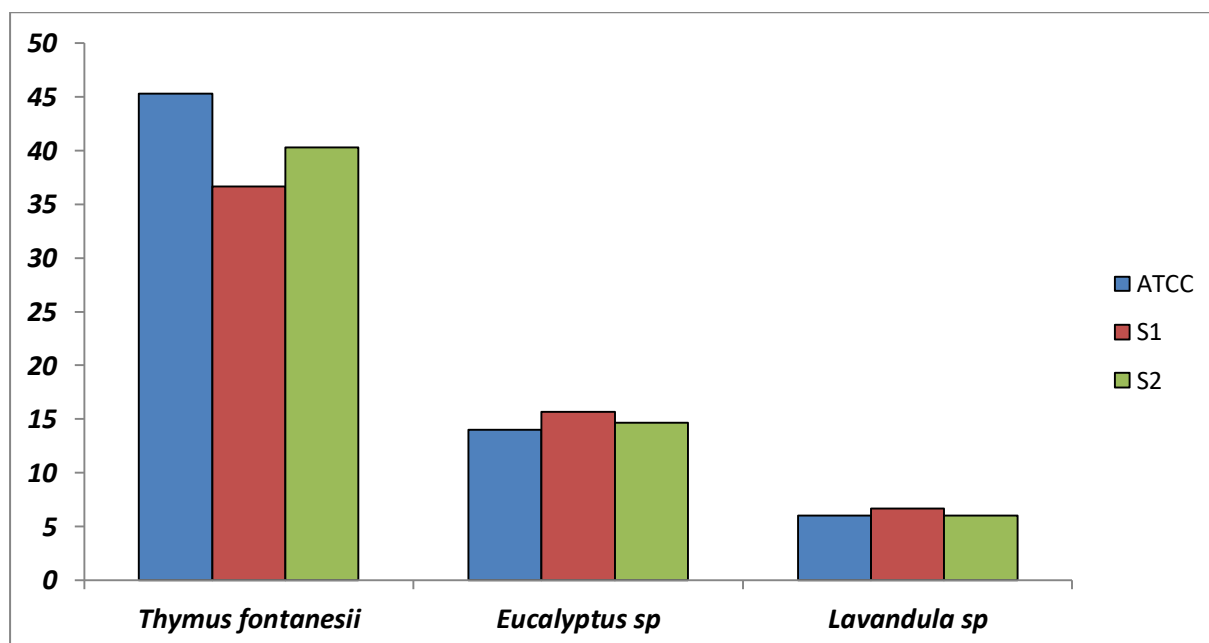


Figure XX. Résultats de l'activité antibactériennes des trois huiles vis-à-vis les souches de *S.aureus*.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* ont montré que cette huile essentielle possède une forte activité antibactérienne vis-à-vis des 2 souches testées de *Staphylococcus aureus* ainsi que la souche de référence, avec des diamètres d'inhibition compris entre  $45,33 \pm 0,57$  mm et  $36,66 \pm 0,57$  mm. D'après la classification proposée par Ponce et al, (2003), toutes les souches se sont révélées extrêmement sensibles à cette huile essentielle vue que les diamètres d'inhibitions étaient supérieurs à 20mm. Nos résultats sont semblables à ceux de **Boutiba (2016)**.

L'huile essentielle de l'eucalyptus (*Eucalyptus sp.*) a confirmé sa forte activité antibactérienne vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* isolées à partir des cas de mammite bovine (zone d'inhibitions compris entre  $14 \pm 1,73$  et  $15,66 \pm 1,15$  mm, ++), tel que rapporté dans la littérature (**Zhu et al, 2016**).

En fin, en utilisant la méthode de sensibilité sur disque standardisée et en se basant sur les valeurs de la zone d'inhibition, l'huile essentielle de la lavande (*Lavandula sp.*) a présenté

une très faible activité antibactérienne, en comparaison aux autres huiles essentielles testées vis-à-vis de toutes les souches avec des diamètres d'inhibition qui variaient entre  $6 \pm 0$  mm et  $6,66 \pm 1,15$  mm.

### VI.3.3 Détermination des concentrations minimales inhibitrices des huiles essentielles

La détermination des paramètres d'inhibition (CMI) nous a permis non seulement de confirmer les résultats obtenus mais aussi de quantifier l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Thymus fontanesii* et de l'*Eucalyptus sp.* vis-à-vis des microorganismes testés. Les résultats de sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* ainsi que de celle de la souche de référence par la méthode de microdilution sont comme suit (Annexe IV):

**Tableau 6. Valeurs des CMI de *Thymus fontanesii* et d'*Eucalyptus sp.* vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.**

	H.E <i>Thymus fontanesii</i>	H.E <i>Eucalyptus sp.</i>
ATCC	0,312%	1,25%
S1	0,625%	2,5%
S2	0,625%	2,5%

Le test préliminaire pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la lavande vis-à-vis des souches testées nous a montré que ces bactéries sont légèrement sensibles à cette huile essentielle et que l'huile essentielle de la lavande possède la plus faible activité antibactérienne en comparaison à celles obtenues à partir du thym et de l'eucalyptus.

Les résultats susmentionnés ont été pris en compte pour la réalisation de la suite des investigations. Par conséquent, nous avons décidé de déterminer les valeurs de la CMI des souches isolées des cas de mammite subclinique afin de déterminer le degré d'efficacité des huiles de thym ainsi que celle de l'eucalyptus vis-à-vis des souches étudiées.

La concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles est en corrélation avec les résultats obtenus par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme), autrement dit plus le diamètre de la zone d'inhibition est large plus la CMI est meilleure. C'est le cas pour les souches testées de *Staphylococcus aureus* qui ont donné les CMI mentionnées dans tableau .

L'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et d'*Eucalyptus.sp* ont exercés une bonne activité inhibitrice vis-à-vis les souches bactériennes.

Les souches de *Staphylococcus aureus* se sont montrées sensibles à l'huile de *Thymus fontanesii* à des concentrations de 0,312 µl/ml pour la souche ATCC et de 0 ,625 µl/ml pour les deux souches isolées à partir des cas de mammite bovine. Les valeurs CMI obtenues dans

notre étude sont inférieures à ceux obtenus par **Dob et al, (2006)** sur *Staphylococcus aureus* (1,0 µl/ml).

L'importante bioactivité d'une huile essentielle est liée à sa teneur élevée de son composant majeur. De nombreuses études ont rapporté que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est liée à leur composition chimique et les groupements fonctionnels (alcool, phénols, terpènes, et cétones) des composés sont associés à cette activité (**Tyagui et Malik, 2011**).

En effet plusieurs auteurs (**Pellecuer et al, 1980 ; Gergis et al, 1990 ; Panizzi et al, 1993 ; Satrani et al, 2008**) ont montré que l'huile essentielle du thym est riche en dérivés phénolique (thymol et carvacrol), ce qui lui confère une forte activité antimicrobienne. Selon Farah et al, (2009), le principal composant du thym est le thymol (67,8%). Cependant le thymol et les chimotypes de carvacrol sont les plus communs du genre thymus (**Stahl-Biskup et al, 2002**). Ainsi, Dorman et al (2000) ont démontré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antimicrobienne contre 22 genres de bactéries testées.

**Lambert et al, (2001)** ont expliqué ce phénomène par le fait que le thymol se lie aux protéines et aux lipo-polysaccharides membranaires grâce à leur groupe fonctionnel et fait augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire bactérienne. D'autres travaux ont suggérer aussi que ce composé volatile est responsable de l'inactivation d'enzyme y compris ceux impliqués dans la production d'énergie et la synthèse des constituants de structure.

Selon une étude menée par **Sebei et al, (2015)** sur différentes espèces d'*Eucalyptus*, l'activité antibactérienne d'extraits de l'huile essentielle du genre *Eucalyptus sp.* est due aux deux composants majeurs : 1,8-cineol et  $\alpha$ -pinène, respectivement.

Toutefois, vu que les huiles essentielles testées renferment des dizaines de composants, l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle thym comme celle de l'eucalyptus pourraient être attribuées non seulement aux constituants majeurs seuls, mais aussi à l'effet synergique entre les différents composants des huiles essentielles, y compris les constituants mineurs.

Il est difficile d'attribuer l'activité de ces huiles essentielles à un constituant particulier, mais il est raisonnable de supposer que l'activité de ces huiles peut être liée à la présence d'une concentration élevée du principal constituant.

*Conclusion*  
*et*  
*Perspectives*

---

## *Conclusion et perspectives*

---

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de trois plantes médicinales aromatiques locales de la région de Tiaret qui sont *Thymus fantanesii*, *lavandula sp.* et *Eucalyptus sp.* sur trois souches bactériennes résistantes à la pénicilline G.

L'huile essentielle de *Thymus fantanesii* et d'*Eucalyptus sp.* ont démontré un bon effet sur les souches testées notamment l'huile essentielle de *Thymus fantanesii* qui a manifesté le plus grand pouvoir antibactérien avec des diamètres d'inhibition qui varient entre 36,66 mm et 45,33 mm pour une concentration de 5µl. L'huile essentielle d'eucalyptus montre un bon effet mais inférieur à celui du thym avec des diamètres d'inhibitions compris entre 14 mm et 15,66 mm pour une concentration de 5µl. L'huile essentielle de la lavande n'a pas exercé un bon effet antibactérien même pour des concentrations supérieures.

Cette variabilité dans l'efficacité dépend du profil chimique de chaque huile essentielle et de l'espèce bactérienne. Ainsi que ces résultats témoignent du grand potentiel que présentent les huiles essentielles pour accéder aux différentes cibles cellulaires ; de ce fait, la résistance aux antibiotiques sera limitée.

En ce qui concerne la détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de micro-dilution en milieu liquide, les trois souches ont été inhibées sous l'action des deux huiles avec des concentrations variant de 0,312% (v/v) jusqu'à 0,625% (v/v) pour l'huile essentielle de *thymus fantanesii* et 1,25% jusqu'à 2,50% (v/v) pour l'huile essentielles de l'*Eucalyptus sp.*

Ces résultats préliminaires obtenus s'avèrent prometteurs dans l'élargissement de l'arsenal thérapeutique des plantes dotées de propriétés antibactériennes. Leur criblage permettrait de découvrir de nouveaux antibactériens, qui pourraient constituer une alternative à l'usage des antibiotiques conventionnels devenus inefficaces.

Toutefois, les méthodes *in vitro* utilisées pour confirmer l'activité antibactérienne des différents extraits sont insuffisantes et nécessitent d'autres tests supplémentaires plus avancées tels que l'étude de l'activité antibactérienne *in vivo*.

De plus, une étude de la composition chimique des huiles est nécessaire et ce afin d'identifier et de préciser les différents principes actifs et pour mieux comprendre leur mode d'action.

Nous recommandons également une étude de conception d'une formule médicamenteuse qui combine entre les antibiotiques et les huiles essentielles présentant des effets synergiques en association et ce dans le but de lutter contre les bactéries manifestant une résistance aux agents antibactériens.



*Références  
Bibliographiques*

- AFNOR, 1986.** Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », Ed.AFNOR, Paris, 57.P
- Atta. A. H., Alkofahi. A. (1998).** Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(2): 117-124.
- Atyabi. N., Vodjgani. M., Gharagozloo. F., Bahonar. A. (2006).** Prevalence of bacterial mastitis in cattle from the farms around Tehran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 7(3): 76-79.
- Bachir, R. (2017).** Antimicrobial activity of Eucalyptus globulus oils. *1<sup>ère</sup> Ed. A.Méndez-Vilas. Espagne.* 68-78.pp
- Bakkali. F., Averbeck. S., Averbeck. D., Idaomar. M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 446-475.
- Bardiau. M., Detilleux. J., Farnir. F., Mainil. J. G., Ote. I. (2014).** Associations between properties linked with persistence in a collection of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 169(1-2): 74-79.
- Barkema. H. W., Schukken. Y. H., Zadoks. R. N. (2006).** Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of Dairy Science*, 89(6): 1877-1895.
- Barrett, Patti.(1996).** Growing and using lavender. *Ed.Storey Publishing,LLC.(USA).* 155(4): 16-24.
- Baser. K. H. C., Buchbauer. G. (2015).** Handbook of essential oils: science, technology, and applications. *2<sup>ème</sup> Ed.CRC Press.(USA).*54-55pp.
- Baudoux. D. (2002).** L'aromathérapie: se soigner par les huiles essentielles. *Ed.Amyris. (France).*30-33pp.
- Blake, S. T. (1953).** Botanical contributions of the northern Australia regional survey. I. Studies on northern Australian species of *Eucalyptus*. *Australian Journal of Botany*, 1(2): 188-189.
- Bouhdid. S., Idaomar. M., Zhiri. A., Baudoux. D., Skali. N. S., Abrini. J. (2006).** *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès International de Biochimie. (Maroc) du 09-12 mai 2006. 324-327pp.
- Bouzouita. N., Kachouri. F., Ben Halima. M., Chaabouni. M. M. (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10: 119-125.

- Bradley. A. J., Green. M. J. (2004).** The importance of the non lactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 20(3): 547-568.
- Brooker. M. I. H. (2000).** A new classification of the genus *Eucalyptus* L'Her.(Myrtaceae). *Australian Systematic Botany*, 13(1): 79-85.
- Bruneton. J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed. *Tec & Doc Lavoisier. Paris*. 1120-1121 pp.
- Chambers. H. F., DeLeo. F. R. (2009).** Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9): 629-641.
- Charles. D. J. (2012).** Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. *Ed. Springer Science & Business Media.*(Allemagne). 553-557 pp.
- Chebaibi. A., Marouf. Z., Rhazi-Filali. F., Fahim. M., Ed-Dra. A. (2016).** Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14(6): 355-362.
- Chevalier. A. (1952).** Travaux français sur le genre *Eucalyptus*. *Journal d'Agriculture Traditionnelle et de Botanique Appliquée*, 32(353): 105-112.
- Cimanga. K., Kambu. K., Tona. L., Apers. S., De Bruyne. T., Hermans. N., Vlietinck. A. J. (2002).** Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(2): 213-220.
- Claus, D. (1992).** A standardized Gram staining procedure. *World journal of Microbiology and Biotechnology*. 8(4): 451-452.
- Coppen, J. J. (2002).** *Eucalyptus: the genus Eucalyptus. Ed. CRC Press. (USA)*. 40-43 pp.
- Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., Wyllie, S. G. (2000).** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1): 170-175.
- David, M. Z., & Daum, R. S. (2010).** Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3): 616-687.
- Descoteaux, L. (2004).** La Mammite Clinique: Stratégies D'intervention. Symposium Sur Les Bovins Laitiers. (Québec). 21 Octobre 2004. 4-20 pp.

- Djabou, N., Lorenzi, V., Guinoiseau, E., Andreani, S., Giuliani, M. C., Desjobert, J. M., Muselli, A. (2013).** Phytochemical composition of *Corsican Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxi-infectious pathogens. *Food Control*, 30(1): 354-363.
- Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., Chelghoum, C. (2006).** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *International Journal of Aromatherapy*, 16(2): 95-100.
- Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2): 308-316.
- Dupont, F., Guignard, J.L., Botanique. (2007).** Systématique moléculaire. 14<sup>ème</sup> Ed. Elsevier Masson. (France) 221-223 pp.
- Dyke, K. G. H., Jevons, M. P., Parker, M. T. (1966).** Penicillinase production and intrinsic resistance to penicillins in *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*, 287(7442): 835-838.
- Edition, A. S. N. (2012).** CLSI document M07-A9. Wayne. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. (USA). 32(2). 18-20.
- El Bouzidi, L., Jamali, C. A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., & Abbad, A. (2013).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan *Thymus* species. *Industrial Crops and Products*.43: 450-456.
- Farah, H., Hamadi A. L., Meziane A., Benmansour A. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science*. 05: 246 –259.
- Festy D., Dupin C. (2012).** La lavande, c'est malin. Ed. Leduc.s. (France). 20-36 pp.
- Figueiredo, A., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Salgueiro, L., Miguel, M. G., Faleiro, M. L. (2008).** Portuguese *Thymbra* and *Thymus* species volatiles: chemical composition and biological activities. *Current Pharmaceutical Design*, 14(29): 3120-3140.
- Fouché, J. G., Marquet, A., & Hambuckers, A. (2000).** Les plantes médicinales de la plante au médicament. In Exposition temporaire du 19-06-2000. *Sart-Tilman*. Liège. (19): B77.
- Franchomme, Pierre, Jollois, Roger. Pénéol, Daniel. (1990).** L'aromathérapie exactement. Ed. Roger Jollois. (France). 212-220 pp.
- Frank, E.R. (2002).** *Veterinary surgery*. Ed. CBS Publishers and Distributors. (Inde). 39-49 pp.

- Fratini, F., Mancini, S., Turchi, B., Friscia, E., Pistelli, L., Giusti, G., Cerri, D. (2017).** A novel interpretation of the Fractional Inhibitory Concentration Index: The case *Origanum vulgare* L. and *Leptospermum scoparium* JR et G. Forst essential oils against *Staphylococcus aureus* strains. *Microbiological research*, 195: 11-17.
- Garnier, F., & Denis, F. (2007).** Bactériologie médical: Techniques usuelles: Cocci à Gram positif. 3<sup>ème</sup> Ed.Elsevier Masson. (France). 29(251): 254-257.
- Garry, P. (2006).** *Staphylococcus aureus*, Escapes More Efficiently. *Nature Reviews Microbiology*, 4(4), 295-304.
- Gergis, V., Spiliotis, V., Argyriadou, N., & Poulos, C. (1991).** Relation between the antimicrobial activity and the chemical composition of the essential oil of *Sidevitis sipylea* boiss. (labiatae). *Flavour and Fragrance Journal*. Ed. John Wiley & Sons.(Royaume-Uni). 6(1): 93–95.
- Goetz, P., Ghedira, K. (2012).** Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles. *Phytothérapie anti-infectieuse*. Ed.Springer-Verlag. (France, Paris) 2012. 193-208 pp.
- Green, M. J., Cripps, P. J., & Green, L. E. (1998).** Prognostic indicators for toxic mastitis in dairy cows. *Veterinary record*.143(5): 127-130.
- Guillén M. D., Manzanos M. J. (1998)** Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus Vulgaris* L. plqnt. *Food chemistry*. 63 (3) : 373-383.
- Haragushi. H., Saito. T., Ishikawa., Date. H., Kataoka. S., Tamura. Y., Mizutani. K. (1996).** Antiperoxidatives components in *Thymus Vulgaris*. *Planta Medica*. 62: 217-221.
- Hmiri, S., Rahouti, M., Habib, Z., Satrani, B., Ghanmi, M., & El Ajjouri, M. (2011).** Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus Camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la société royale des sciences de liège*. 80: 824 – 836 .
- Hudaib M., Speroni E., Pietra A. M. D., Carvin V. (2002)** GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during vegetative cycle. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 29: 691-700.
- Humblet, M. F., & Godeau, J. M. (2005).** L'haptoglobine, marqueur protéique de l'inflammation aiguë, dans l'espèce bovine. *Annales de Médecine Vétérinaire*.149(1):20-33.
- Inouye. S., Takizawa. T., Yamaguchi. H. (2001).** Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 47(5): 565-573.

## Références bibliographiques

---

- Iserin, P. (1997).** Encyclopédie des plantes traditionnelles, identification, préparation, soin. *Ed.Lavoisier.* (Paris). 266 p.
- Iserin P. (2001)** Encyclopédie des plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> Ed. *Larousse.*(Londres).143 et 225-226 pp.
- Jassim. S. A. A., Naji. M. A. (2003).** Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective. *Journal of Applied Microbiology.* 95(3): 412-427.
- Jean, B. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>ème</sup>Ed.*Lavoisier.* (France). 137p.
- Kateete, D. P., Kimani, C. N., Katabazi, F. A., Okeng, A., Okee, M. S., Nanteza, A., ... & Najjuka, F. C. (2010).** Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.* 9(1): 23-30.
- Kulšić. T., Dragovic-Uzelac. V., Miloš. M. (2006).** Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from *Oregano*, *Thyme* and *Wild Thyme*. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (4): 485-492.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology.* 91(3): 453-462.
- Ložienė, K., Venskutonis, P. R., Šipailienė, A., & Labokas, J. (2007).** Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food chemistry.* 103(2): 546-559.
- Mohammedi Z, Bachik S, Belkaroube N (2010).** Potentiel antifongique et anti aflatoxinogène des huiles essentielles d'une *Thymus fontanesii* Boiss and Reut. *Les technologies de laboratoire.* 5 (19): 10-15.
- Meister, R., Wittig, T., Beuscher, N., & de Mey, C. (1999).** Efficacy and tolerability of Myrtol standardized in long-term treatment of chronic bronchitis. *Arzneimittel for schung.* 49(04): 351-358.
- Naganuma, M., Hirose, S., Nakayama, Y., Nakajima, K., & Someya, T. (1985).** A study of the phototoxicity of lemon oil. *Archives of Dermatological Research.* 278(1): 31-36.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & Feo, V. D. (2017).** Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals (Suisse).* 10(4): 86-106.
- Nickavar. B., Mojab. F., Dolat-Abadi. R., (2005).** Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry.* 90: 609-611.

- Palikan. W. (2002).** L'homme et les plantes médicinales, *Tome 1, Ed. Triades.*(Paris).154-156 pp.
- Panizzi. L., Flamini. G., Gioni. P.L., Morelli I. (1993).** Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Ethnopharmacology.* 39: 169-170.
- Pellecuer. J., Jacob. M., Simeon de Buechberg. M., Allegrini. J. (1980).** Therapeutic value of the cultivated mountain avory (*Satureia Montana L.*). *Acta Hort.* 96: 35-39.
- Piochon, M. (2008).** Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héliosynthèse. *Université du Québec à Chicoutimi.* 1-200 pp.
- Pivetta, T. P., Simões, S., Araújo, M. M., Carvalho, T., Arruda, C., & Marcato, P. D. (2018).** Development of nanoparticles from natural lipids for topical delivery of thymol: Investigation of its anti-inflammatory properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 164 : 281–290.
- Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on native microbial population of organic Swiss Chard (*Beta vulgaris*, type cicla). *Food Science and Technology.*36 : 579-684.
- Price. S., Price. L. (2007).** Aromatherapy for Health Professionals. 3<sup>ème</sup> Ed.Churchill Livingstone. 32-50 pp.
- Quezel, P., & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méditerranéennes. *Centre National de la Recherche Scientifique.* (Paris, France).19-23 pp.
- Rahal, K. (1999).** Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. *Ed.INS. ALGERIE.* 7-15 pp.
- Rainard, P., & Riollet, C. (2006).** Innate immunity of the bovine mammary gland. *Veterinary research.* 37(3): 369-400.
- Rasooli. I., Rezaei. M.B., Allameh, A. (2006).** Ultra structural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Infectious Diseases.* 10(3): 236-241.
- Remy. D. (2004).** Les traitements utilisés lors des mammites sur aiguës. *Conférence sur la prévention médicale et le traitement des mammites. (Prague), 23-24 Janvier.* p 66-84.
- Rosenbach, A. J. F. (1884).** Mikro-organismen bei den Wund-infections-krankheiten des Menschen, *Ed.JF Bergmann.* 1-122 pp.



- Rubiolo, P., Sgorbini, B., Liberto, E., Cordero, C., & Bicchi, C. (2010).** Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. A review. *Flavour and Fragrance Journal*. Ed. John Wiley & Sons. (Royaume-Uni). 25(5): 282-290.
- Ribeiro, M. G., Lara, G. H. B., Bicudo, S. D., Souza, A. V. G., Salerno, T., Siqueira, A. K., & Geraldo, J. S. (2007).** An unusual gangrenous goat mastitis caused by *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli* co-infection. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 59(3): 810-812.
- Saidj.F. (2006).** Extraction de l'huile essentielle de thym : *Thymus numidicus Kabylica*- Thèse de magistère en technologie des hydrocarbures. *Université M'Hamed Bougara- Boumerdes*. 1-116 pp.
- Sangwan, N., Farooqi, A., Shabih, F., & Sangwan, R. (2001).** Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*. 34(1): 3-21.
- Santos, F., & Rao, V. (2000).** Anti inflammatory and anti nociceptive effects of 1, 8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytotherapy Research*. 14(4):240-244.
- Satrani B. (2008).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthusmixtus*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 146 : 85-96.
- Schauenberg P. et Paris F. (2010).** Analyse, description et utilisation de 400 plantes. Ed. Delachaux et Niestle. (France). 45-53 pp.
- Sebei, K., Sakouhi, F., Herchi, W., Khouja, M. L., & Boukhchina, S. (2015).** Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves. *Biological research*. 48(1): 7-12.
- Shama Hmiri, M. Rahouti, Zakaria Habib, Badr Satrani, Mohamed Ghanmi., M. El Ajjouri. (2011).** Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 80: 824–836.
- Sidi Boulouar K., Ziane A. (2003).** Etude phytochimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas L.* de la région de Tlemcen. *Faculte des Sciences Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen*. 120 P.
- Sidali, L., Brada, M., Fauconnier, M. L., & Kenne Kemene, T. (2017).** Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Thymus fontanesii* Boiss. & Reut from North of Algeria. 2nd International Conference on Natural Health, *Abdelhamid Ibn Badis University, Mostaganem*, October 26-28.



## Références bibliographiques

---

- Small, E., & Deutsch, G. (2001).** Herbes culinaires pour nos jardins de pays froid. *Ed. NRC Research Press and Ismant Peony Press.*(Canada). 35-38 pp.
- Smith, C. K., Moore, C. A., Elahi, E. N., Smart, A. T., & Hotchkiss, S. A. (2000).** Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde, and cinnamic alcohol. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 168(3): 189-199.
- Stahl-Biskup. (2002).** Essential oil chemistry of the genus *Thymus*—a global view. *Thyme: the genus Thymus.* Ed. Taylor & Francis. (Royaume-Uni). 16-20 pp.
- Standards, N. C. f. C. L. (2003).** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, *Ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards.*(USA). 32(1): 11-13.
- Stefanovits-Bányai, É. (2003).** Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) clones. *Acta Biologica Szegediensis.* 47(1-4): 111-113.
- Strandberg, Y., Gray, C., Vuocolo, T., Donaldson, L., Broadway, M., & Tellam, R. (2005).** Lipopolysaccharide and lipoteichoic acid induce different innate immune responses in bovine mammary epithelial cells. *Cytokine.* 31(1): 72-86.
- Sperber, W. Z., & Tatini, S. R. (1975).** Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Appl. Environ. Microbiol.,* 29(4): 502-505.
- Sutra, L., Poutrel, B. (1994).** Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology,* 40(2): 79-89.
- Tesche, S., Metternich, F., Sonnemann, U., Engelke, J. C., & Dethlefsen, U. (2008).** The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology.* 265(11): 1355-1359.
- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005).** *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles.* Ed. Lavoisier/Tec & Doc.(France). 23-28 pp.
- Toroglu, S. (2007).** In vitro antimicrobial activity and antagonistic effect of essential oils from plant species. *Journal of Environmental Biology.* 28(3): 551-559.
- Traore, N., Sidibe, L., Bouare, S., Harama, D., Somboro, A., Fofana, B., Chalchat, J. C. (2013).** Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* Hook et *Eucalyptus houseana* W. Fitzg. ex Maiden. *International Journal of Biological and Chemical Sciences.* 7(2): 800-804.
- Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011).** Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry.* 126(1): 228-235.

## *Références bibliographiques*

---

**Vincenot, F., M. Saleh and G. Prévost (2008).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone des laboratoires*. (407): 61-69.

**Wallemacq, H., Girard, B., Lekeux, P., & Bureau, F. (2010).** La vaccination contre les mammites à *Staphylococcus aureus* chez la vache laitière. In *Annales de Médecine Vétérinaire. Université de Liège*. 154(1): 16-29.

**Wenz, J. R., Barrington, G. M., Garry, F. B., McSweeney, K. D., Dinsmore, R. P., Goodell, G., & Callan, R. J. (2001).** Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*,. 219(7): 976-981.

**Wichtl. M., Anton. R. (1999).** Plantes thérapeutiques : tradition, pratique Officinales, sciences et thérapeutique, *Ed. Tec et Doc.*(France).15-21 pp.

**Wilson. M., Girard. G. (2007).** Fleurs comestibles du jardin à la table, *Ed. Fides.*(Canada).34-35 pp.

**Www.tela-botanica.org**. Consulté le 7 juin 2019 à 19h13.

**ZHU et al. (2016).** Bactericidal effects of *Cinnamon cassia* oil against bovine mastitis bacterial pathogens. *Food Control*. 66: 291-299.

# ***ANNEXES***

**Annexe 1: Appareillage du laboratoire**



**Incubateur**



**Four pasteur**



**Autoclave automatique**



**Plaque chauffantes  
agitateur magnétique**

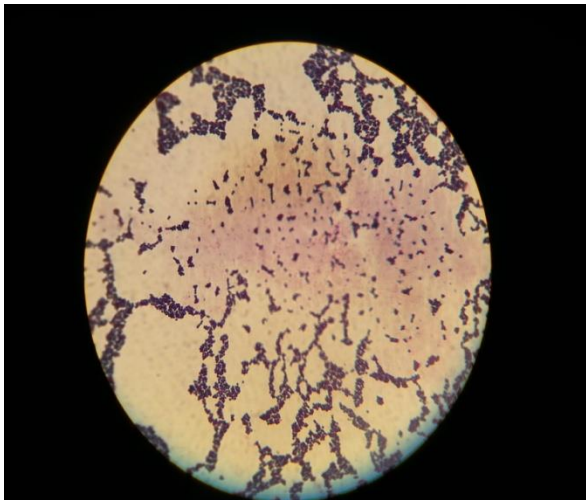


**Vortex**



**Spectre photo**

Annexe 2: Résultats des tests d'identification



Vue microscopique des *S.aureus*  
(Coloration de gram)



Souche S2 coagulase +

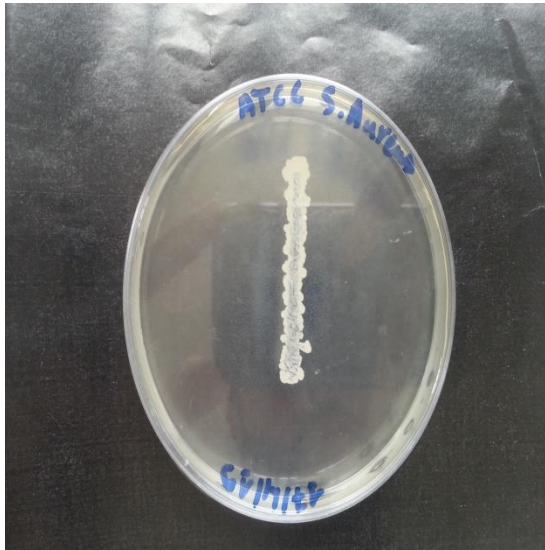


ATCC coagulase +

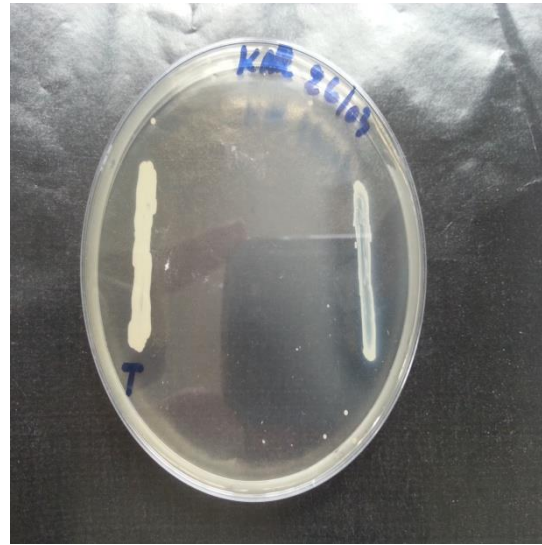


Souche S1 coagulase +

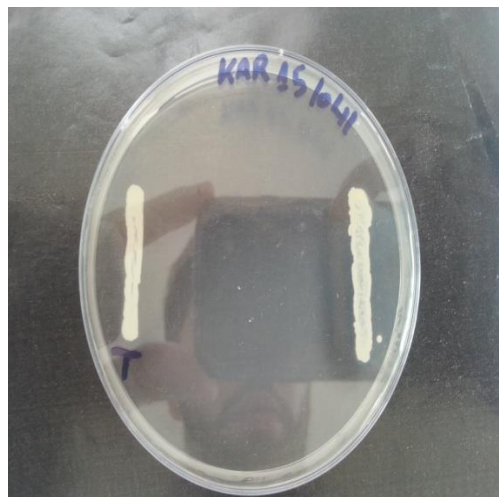




ATCC DNASE+

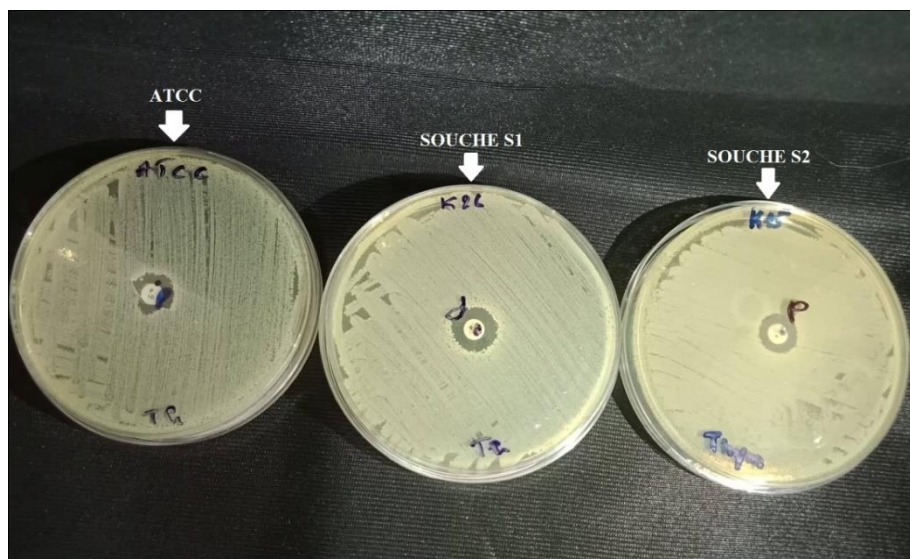


Souche S1 DNASE

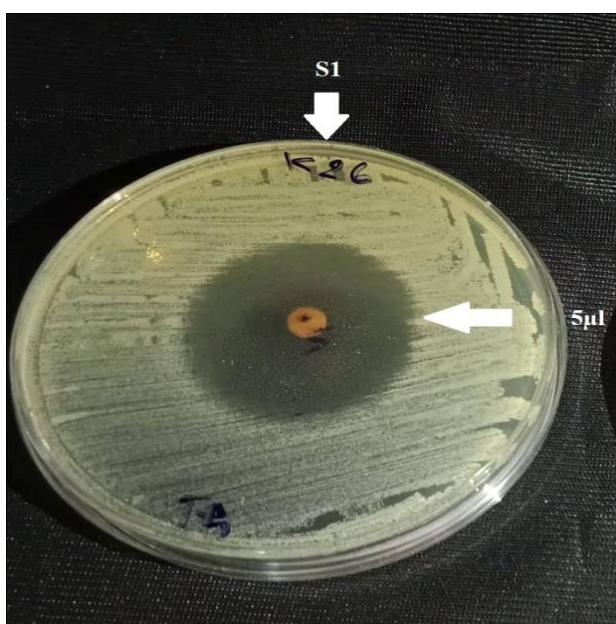


Souche S2 DNASE+

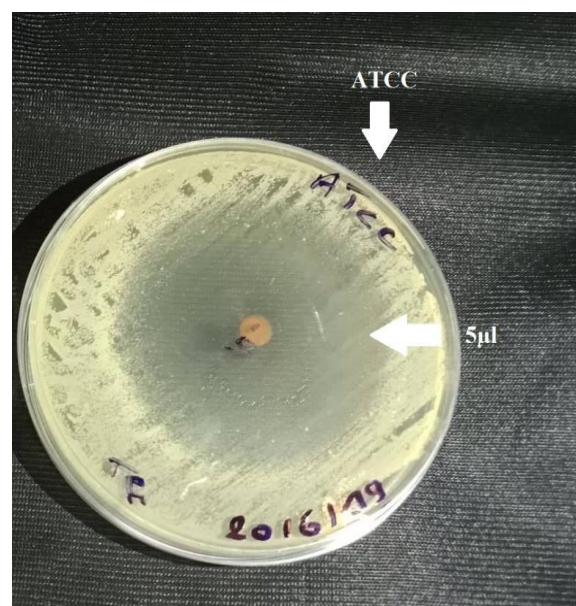
Annexe 3 : Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne



Résultats de l'antibiogramme des trois souche de *S.aureus*

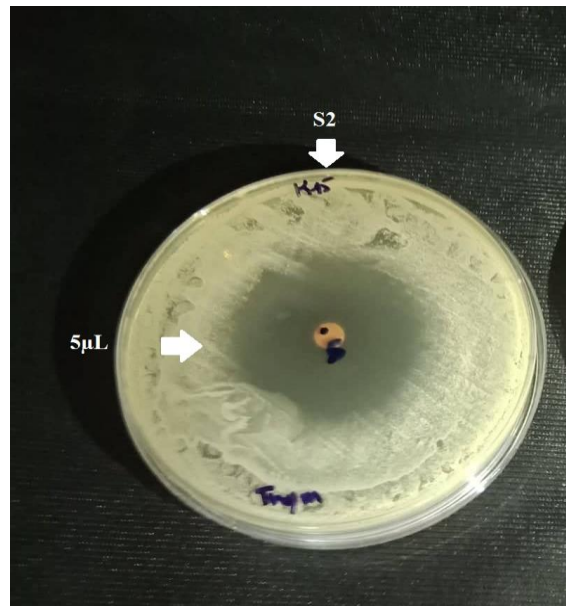


Effet anti bactérien de l'huile de thym vis à vis Souche ATCC



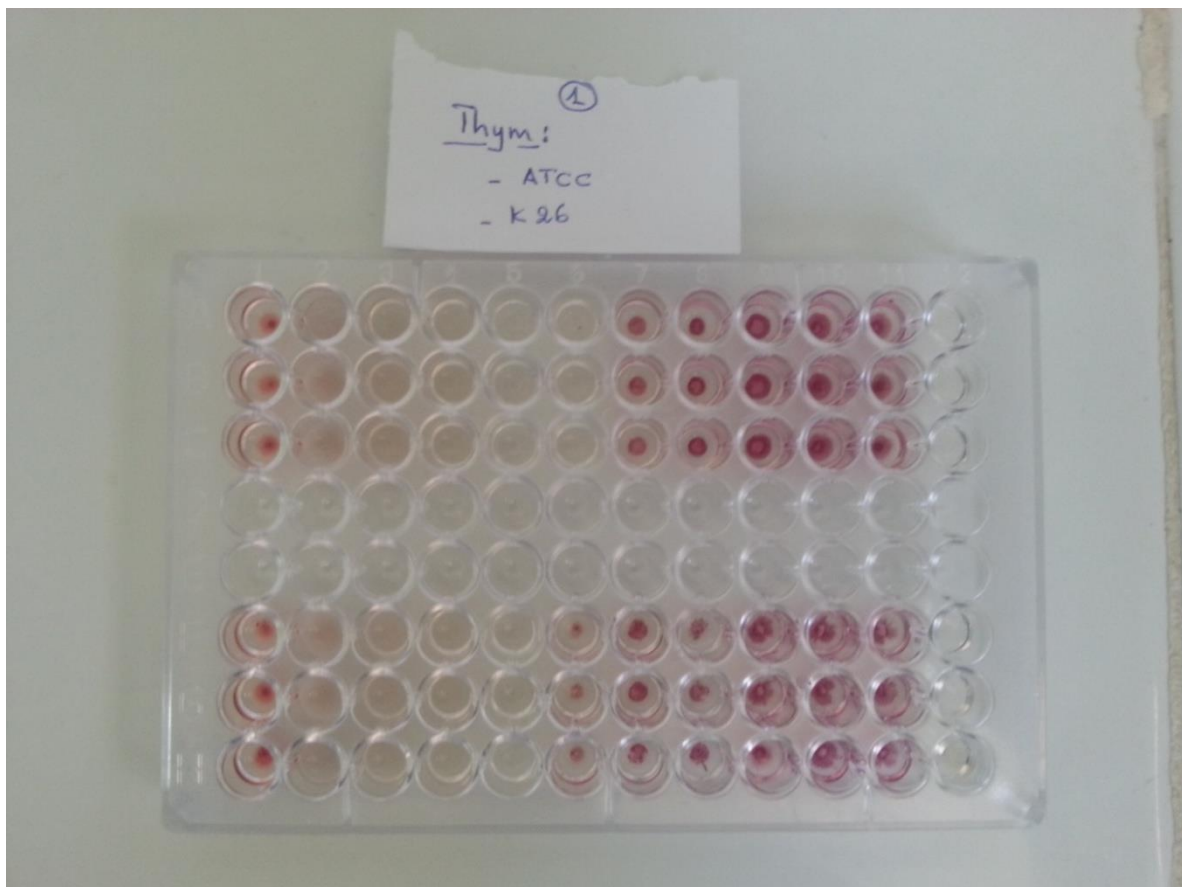
Effet antibactérien de l'huile de thym vis à vis Souche S1

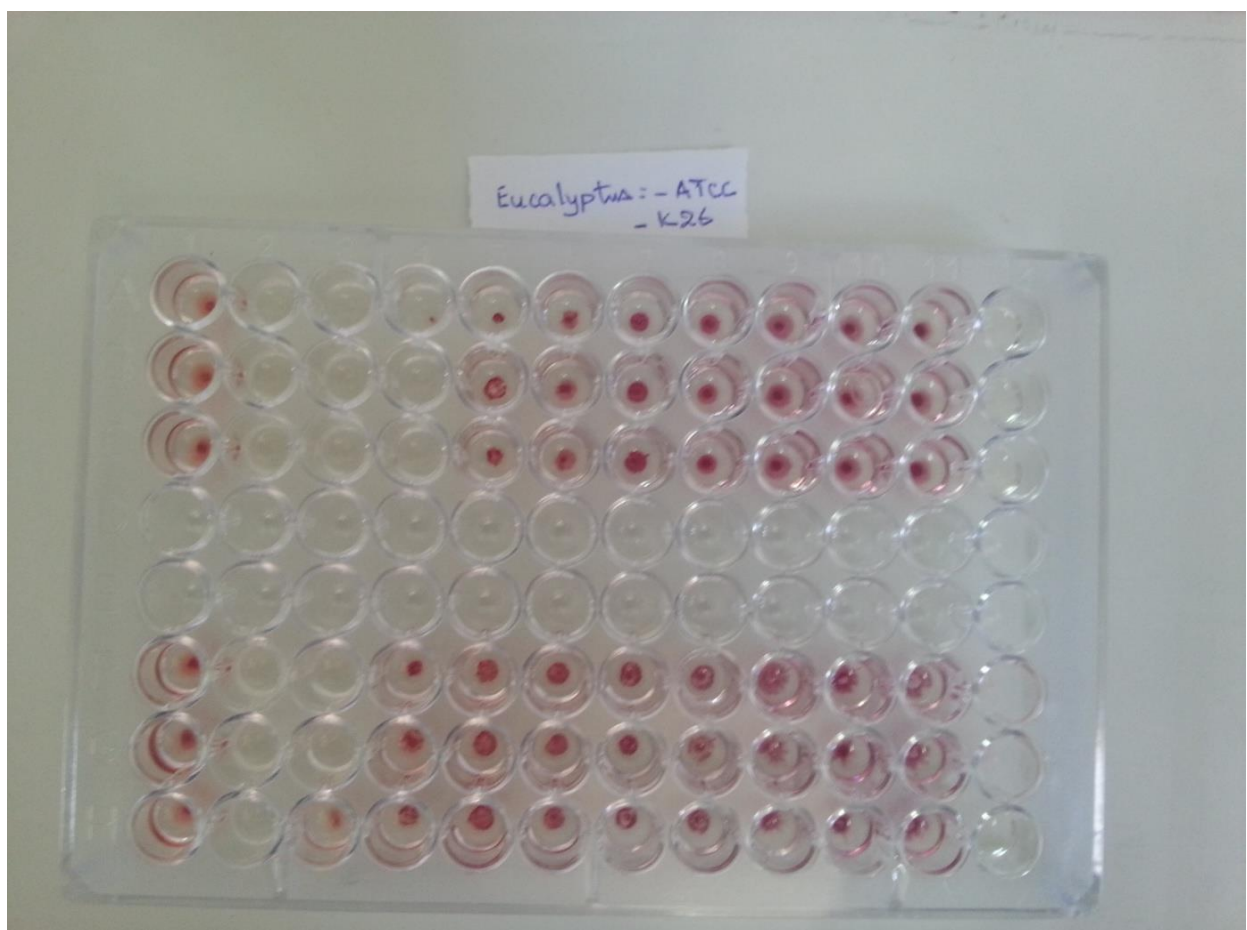
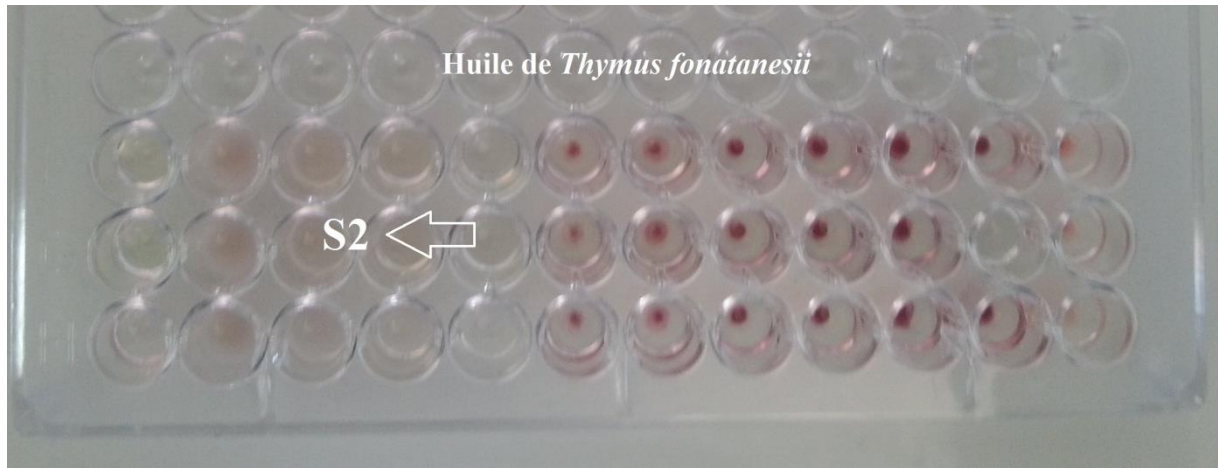


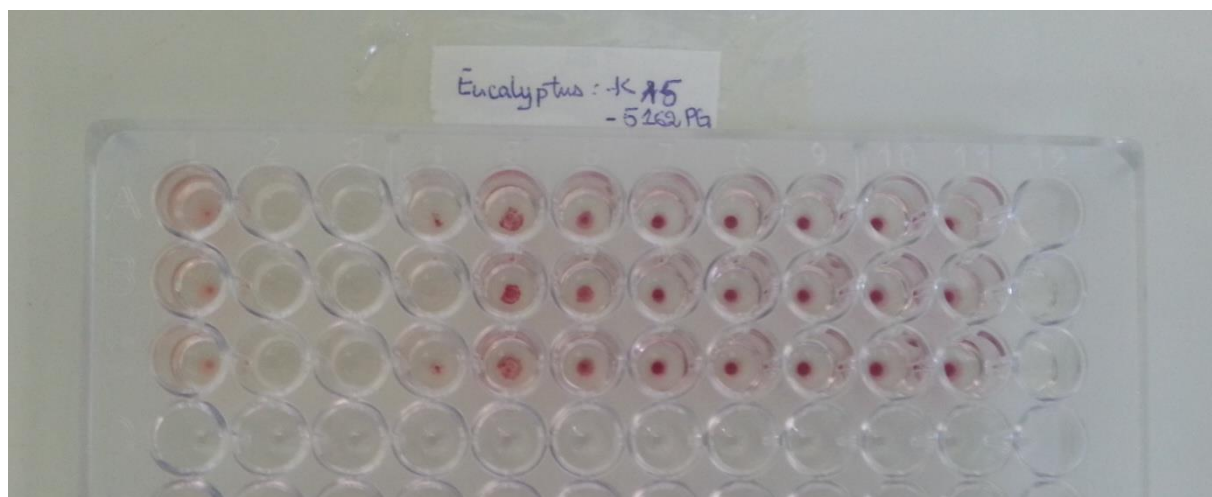


Effet antibactérien de l'huile de thym vis à vis Souche S2

Annexe 4: Résultats de microdilution







## Résumé

L'utilisation abusive et intempestive des antibiotiques sont à l'origine de l'émergence de bactéries Gram positives résistantes qui représentent un défi majeur à la thérapie antimicrobienne, augmentant par conséquent l'incidence des mammites cliniques et sub-cliniques. Pour surmonter ce problème de résistance, la plupart des travaux sont orientés actuellement vers d'autres agents antimicrobiens possédant un mode d'action tout à fait spécifique. Pour cela notre travail a porté sur l'étude de l'activité des trois huiles essentielles de *thymus fontanesii*, *Eucalyptus sp*, *Lavandula sp* originaires de l'ouest Algérien vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* résistante à la Pénicilline isolé à partir de lait de vache atteintes demammite bovine après avoir examiné l'état clinique des quartiers par un test du CMT (*California Mastitis Test*). L'extraction des huiles essentielles des plantes est effectuée par hydro-distillation. Les rendements obtenus étaient de 2,06%, 0,51%, 0,92% respectivement. La première partie de notre étude visait à sélectionner les souches résistantes à la pénicilline par la méthode d'antibiogramme, et la deuxième partie portait sur l'évaluation qualitative et quantitative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles qui été faite respectivement par aromatoigrammes et micro-dilution. Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle de *thymus fontanesii* présentait l'activité antibactérienne la plus importante par rapport à *eucalyptus sp* et *la lavande sp* avec des diamètres d'inhibitions qui variaient entre  $36,66 \pm 0,57$  mm et  $45,33 \pm 0,57$  mm pour la concentration de 5 $\mu$ l. Pour cette huile la concentration minimaleinhibitrice était de 0,312(v/v) et 0,625 % (v/v). Tant dit que l'huile essentielle de la *lavande sp* a montré un effet très faible vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées.

La présente étude souligne l'importance de l'effet antibactérien des huiles essentielles qui pourraient être utilisées comme traitement alternatif de la mammite sub-clinique, limitant en conséquence la résistance de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline.

**Mots clés :** Mammite sub-clinique, CMT, Antibiotiques, Pénicilline, *Staphylococcus aureus*, *Thymus fontanesii*, *Eucalyptus sp.*, *Lavandula sp.*, CMI.

## Abstract

The excessive and untimely use of antibiotics is responsible for the emergence of resistant gram-positive bacteria that represent a major challenge to antimicrobial therapy, thereby increasing the incidence of clinical and subclinical mastitis. To overcome this resistance problem, most work is currently focused on other antimicrobial agents with a very specific mode of action. For this, our work focused on the study of the activity of three essential oils of *thymus fontanesii*, *Eucalyptus sp*, *Lavender* sp originating from Algeria's ouest against *Staphylococcus aureus* isolated from cow's milk with bovine mastitis after examining the clinical status of the teats with a California Mastitis Test (CTM). The extraction of essential oils from the plants is carried out by hydro-distillation. The yields obtained respectively 2.06%, 0.51%, 0.92% were interesting for a qualitative and quantitative study. The first part of our study aimed to select penicillin-resistant strains by the antibiogram method, and the second part focused on the qualitative and quantitative evaluation of the antibacterial activity of essential oils which was made respectively by aromagramme and micro-dilution. The results obtained showed that the essential oil of *Thymus fontanesii* had the most important antibacterial activity compared to *Eucalyptus sp* and *lavender sp* with inhibition diameters which varied between  $36.66 \pm 0.57$  mm and  $45.33 \pm 0.57$  mm for the concentration of 5 $\mu$ l. For this oil the minimum inhibitory concentration was 0.312 (v / v) and 0.625% (v / v).

So much so that the essential oil of *lavender sp* showed a very weak effect against all the bacterial strains tested.

The present study highlights the importance of the antibacterial effect of essential oils that could be used as an alternative treatment for subclinical mastitis, thereby limiting the resistance of *Staphylococcus aureus* to penicillin.

## ملخص

يعتبر الاستخدام المفرط وغير المحدود للمضادات الحيوية مسؤولاً عن ظهور بكتيريا موجبة Gram مقاومة تمثل تحدياً رئيسياً للعلاج المضاد للتهاب الضرع السريري وتحت السريري، وللتغلب على هذه المشكلة تتجه معظم الأبحاث العلمية حالياً إلى إيجاد نوع آخر من المضادات الحيوية تعمل على تحديد الميكروبات، من أجل هذا فقد أجرنا دراسة مفعول لثلاث زيوت أساسية مستخلصة من نباتات من غرب الجزائر والتي هي: الزعتر، الكاليتوس والخزامى لمعرفة أثرها على وسلالات لبكتيريا من نوع *Staphylococcus aureus* المعزولة من حليب إبقار مصابة بالتهاب الضرع تحت السريري بعدما قمنا بفحصها باختبار CTM

عمليات استخلاص الزيوت الأساسية تمت بواسطة تركيب التقطير المائي حيث حصلنا على الكميات التالية: 0,51 2,06 و 0,92 على التوالي والتي كانت مثيرة للاهتمام لدراسة نوعية و كمية .

في الجزء الأول من هذه الدراسة قمنا بمجموعة من الاختبارات لتحديد سلالة البكتيريا المقاومة للبنيسيلين بطريقة المضادات الحيوية، أما الجزء الثاني فيركز على التقييم النوعي والكمي للزيوت الأساسية، النتائج المتحصل عليها أظهرت أن الزيت الأساسي للزعتر هو الأعلى نشاطاً مقارنة بالكاليتوس والخزامى حيث تتراوح أقطار التثبيط ما بين 0,57±36,66 و 0,57±45,33 من أجل تركيز قدره 5 ميكرو لتر، بالنسبة لهذه الزيت فإن التركيز المثبط الأقل هو 0,312 و 0,625.

أما زيت الأساسي للخزامى فقد أظهر مفعولاً ضعيفاً جداً ضد جميع السلالات البكتيرية التي تم اختبارها .

هذه الدراسة تبين أهمية مفعول الزيوت الأساسية المضاد للمكروبات والذي يمكن استعماله كعلاج طبيعي لالتهاب الضلع تحت السريري عند الإبقار.